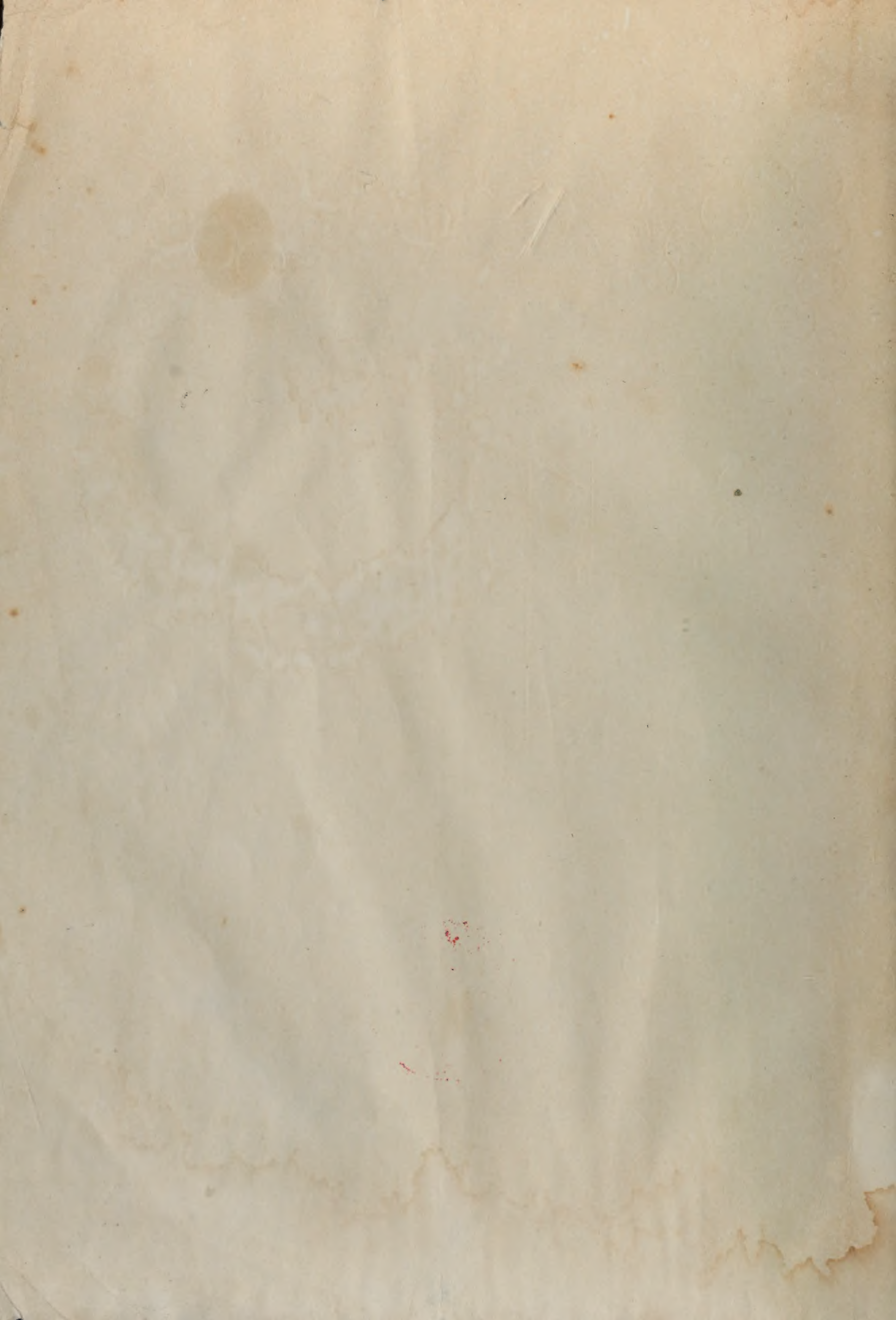

基础生物化学
沈仁权 顾其敏 李咏棠 方深高 孙鸿乔 编
上海科学技术出版社



基础生物化学

沈仁权　顾其敏　李詠棠
方　深　高　孙　鸿　乔　编



上海科学技术出版社



基础生物化学

沈仁权　顾其敏　李詠棠
方深高　孙鸿乔　编

上海科学技术出版社出版
（上海瑞金二路 450 号）

新华书店上海发行所发行　江苏如皋印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16　印张 27.75　字数 656,000
1980 年 8 月第 1 版　1981 年 4 月第 2 次印刷
印数 14,001—33,000

书号：13119·796　定价：（科四）2.55 元

前　　言

本书是根据复旦大学生物系的生物化学课程，在多年教学和所编教材的基础上编写而成的。考虑到生物化学的完整性，增加了我们教学内容中所没有的一些章节（糖类化学、脂类化学和以光合作用为主要内容的糖的合成代谢等章节），可供大专院校生物系各专业的生物化学基础课作参考教材，以及供从事工农医等实际工作的有关生物化学工作者阅读参考。

本书第一章由沈仁权、顾其敏合编；第二、三章由方深高编写，第四至六章由顾其敏编写；第七、八、十二章由李詠棠编写；第九、十、十三至十六章由沈仁权编写，第十一章由孙鸿乔编写。在编写过程中，得到生化教研组其他同志阅读手稿并进行了有益的讨论和修改。还有不少同志在具体内容上曾给予各种帮助，我们表示感谢。

由于本书是几个人共同编写的，因此在内容上前后不免稍有重复的地方，各章节在份量上也不十分平衡，请读者原谅。限于编者水平，缺点和错误在所难免，请读者给予批评和指正。

编　者



目　录

第一章　绪　论

第二章　糖类化学

第三章　脂质类化学

第四章 蛋白质的化学

第五章 核酸的化学

第六章 酶

第七章 维生素及辅酶

第八章 激 素

第九章 代 谢 总 论

第十章　糖类的分解代谢

第十一章　糖类的合成代谢

第十二章　脂 类 代 谢

第十三章 蛋白质和氨基酸代谢

第十四章 核酸代谢

第十五章 蛋白质的生物合成

第十六章　代谢调节



第一章 绪　论

生物化学是一门研究生命现象的化学本质的学科。组成生物体的主要成分是糖类、脂质类、蛋白质、核酸以及一类对生物体内化学反应起着催化调节作用的物质——酶、维生素和激素。研究这些物质的组成、结构、性质和功能，构成了生物化学的主要内容的一个方面。生物和无生命物质的区别在于它经常进行自我更新，生物体和外界进行物质交换是它生存的基本条件。因此生物化学的另一个方面就是研究上述种种物质在生物体内怎样分解、怎样合成、怎样相互转化又相互制约以及物质转化过程中的能量转换等问题。人们常把前一方面的内容称为静态生物化学，后一方面的内容称为动态生物化学。在这两方面的基础上，各种生命现象如生长、发育、运动、适应、遗传变异等活动规律才可以得到充分阐明，从而应用这些规律为人类服务。

生物化学是十九世纪末叶随着医学、发酵工业的发展逐渐形成的一门独立的学科。由于它和生产、生活实践息息相关，因此二十世纪以来，随着其他科学技术的发展，生物化学的研究也就迅速发展，涉及的面也愈来愈广，诸如农业、工业、医药、国防等方面都与生物化学有关。

从医学方面来讲，人或动物的病理状态往往是由于细胞的化学成分的变化，从而引起功能的紊乱。血液中脂类物质含量增高是心血管疾病的特征之一；血红蛋白的一级结构改变可以导致溶血。疾病的诊断愈来愈多地依赖于生化指标。此外，从生物化学的角度阐明药理作用，有助于设计有效的药物。

生化药物是一类具有治疗作用的生化物质。例如从动物脏器中抽提出来的各种激素、从酵母菌中抽提出来的细胞色素 c、用微生物制备出来的核苷酸类物质以及一些通过化学合成的激素小肽或维生素等都已经应用到临床上。近年来这方面发展很快，是和生物化学理论的研究分不开的。

微生物的新陈代谢活动是发酵工业的基础。酒精是酵母菌的代谢产物。氨基酸、酶、抗菌素等也都可以通过微生物发酵生产。发酵产物的提炼和分离也必须依赖生物化学的知识。此外，研究微生物代谢过程对于选育高产优质的菌株具有指导意义，例如研究微生物合成肌苷酸的代谢过程指导了高产肌苷酸菌株的选育工作。

农业生产的发展也和生物化学密切相关。农业生产中的两个重要课题是光合作用和氮素固定。大田作物一般只能利用太阳全年辐射能的0.1～1.0%。怎样提高辐射能的利用和提高 CO_2 的固定，涉及光合作用中的生物化学方面的研究。大气中氮气占78%，自然界中只有几种微生物能够固定氮气，如果几种主要作物都能利用氮气，那么农业产量就可大幅度地提高，因此生物的固氮作用也是生物化学的一个重要课题。农业上所用的杀虫农药都是通过抑制害虫的胆碱酯酶而起防治作用的。此外，农副产品的加工和储藏等也都和生物化学有关。

我国是世界上文明发达最早的国家之一，对人类作出过巨大的贡献。对生物化学的认

识和应用也是远远早于其他国家。公元前四世纪时庄子已记载瘿病(即甲状腺肿胀);公元四世纪(晋朝)时葛洪已经知道用含碘丰富的海藻治疗瘿病。公元七世纪(唐朝)时孙思邈已有关于脚气病的记载,知道这是一种食米区的病,并且还知道用猪肝来治疗夜盲症。现在知道猪肝是维生素 A 的丰富来源。我国劳动人民早在公元前二十二世纪就知道酿酒;公元前十二世纪时就知道制酱。

近代生物化学的发展可以从 1897 年 Büchner 的发现讲起。他发现磨碎的酵母菌细胞的抽提液仍能使糖发酵。这是用离体的方法研究动态生物化学的开始。这一研究工作为后来 Embden、Meyerhoff、Krebs 等人对糖的分解代谢机制的研究以及酶学研究开辟了道路。

1926 年, Sumner 首先获得脲酶的结晶,证实酶是蛋白质,大大地推动了酶学和蛋白质化学的研究。生命活动中一类关键性的物质是酶,而酶都是蛋白质,所以蛋白质分子结构研究在生物化学中占有重要的地位。

1945~1955 年这一段时间中, Sanger 完成了牛胰岛素蛋白质一级结构的分析,这项工作无疑地是划时代的贡献。1965 年我国首先完成了结晶牛胰岛素的人工合成。

在动态生物化学研究中特别值得一提的是 1935 年 Schoenheimer 和 Rittenberg 应用示踪元素研究代谢作用的工作。实验结果证实了恩格斯的名言:“生物在每一瞬间是它自身,同时又是别的东西”。从此以后示踪元素成为生物化学研究工作中经常应用的一项技术。

五十年代中, Kendrew 和 Perutz 用 X-光衍射法对鲸肌红蛋白和马血红蛋白进行研究,阐明了这两种晶体蛋白的空间结构,这是在蛋白质结构的研究中又一重大贡献。

1953 年, Watson 和 Crick 创造性地提出了关于 DNA 分子的结构理论,为以后分子遗传学的研究奠定了基础。1977 年 Sanger 又完成了由 5375 个核苷酸组成的噬菌体 ϕX 174 DNA 的一级结构分析,为遗传物质的结构与功能的研究又迈出了重要的一步。

在生物化学的基础上发展起来的分子生物学是近二十年来生物科学中进展极快的一门新兴学科。分子生物学是一门边缘科学,用物理、化学和生物学的方法研究生物大分子的结构和功能,阐明生物学上的许多重大问题,如细胞分化、胚胎发育、遗传变异、生物进化、生物膜、肿瘤、免疫等等。有人把有关遗传信息的复制、传递、表达以及调节控制等方面的研究称为分子遗传学。近几年来,这方面发展尤快,在初步阐明突变机制、遗传密码、基因分离以及原核生物的调控机制等一系列理论课题之后,又成功地将亲缘较远不能杂交的物种通过 DNA 体外重组制成新的品种,为定向改造生物指出了方向。有关重组 DNA 的研究被称为遗传工程,目前这一课题正在被国内外的生物化学工作者和遗传学工作者所关注。

生物化学的发展和分析分离技术的发明密切有关。在生物化学研究中层析法、电泳法、光谱法、同位素示踪法、超离心法等等几乎都已成为必不可少的基本方法。此外如核磁共振、X 光衍射、中子衍射、电子显微镜等技术也愈来愈多地应用到生物化学的研究中。

第二章　糖类化学

第一节　糖的一般概念

从细菌到高等动物的机体，都含有糖类物质。植物体中含量为最丰富，约占干重的85～90%。植物通过光合作用，把二氧化碳和水转变成各种糖，主要是葡萄糖。其他生物则以糖类为营养物质，糖类物质在生物体中的作用，有以下几方面：

(1) 合成其他物质　组成生物体的其他物质，如蛋白质、核酸、脂类等，也包括动物体及微生物的某些糖类物质，它们分子的碳架大多是直接和间接地从糖转化过来的。所以，糖类物质是生物体合成本身物质的基本原料。

(2) 供作能源　一切生物在它生存活动的过程中，都要消耗能量。能量主要是由糖类物质在降解代谢过程中提供的。例如，粮食的主要成分是一种淀粉多糖，在消化道中水解成葡萄糖。葡萄糖在细胞内氧化，提供大量为机体利用的能量。

(3) 充当结构性物质　在植物中，茎杆的主要成分纤维素是起支持作用的结构物质。纤维素是一类广泛存在于生物界的多糖物质，化学性质比较稳定，在强酸作用下，可得到葡萄糖。在细胞间质当中的粘多糖也是结构物质。细胞膜结构的蛋白质、脂质中有些是与糖结合而成的糖蛋白和糖脂，它们具有重要功能。

从化学结构上看，糖是一大类多羟基醛或酮的化合物，按结构特点分成三类：

(1) 单糖　简单的多羟基的醛或酮的化合物。

(2) 聚糖　各种单糖的缩聚物。以分子中含单糖基的多少分别称多糖和低聚糖。

(3) 糖的衍生物　糖的还原产物——多元醇，氧化产物——糖酸，氨基取代物——氨基糖以及糖磷酸酯等。

第二节　单糖的化学

自然界中的单糖，主要是六碳糖和五碳糖。常见的六碳糖有葡萄糖、果糖、半乳糖等，游离的葡萄糖和果糖分布于水果中，但多数以聚糖的形式存在。重要的五碳糖是核糖和脱氧核糖，它们是核酸的组成部分。

一、单糖的命名

糖的名称常与它的来源相联系，例如葡萄糖曾是从葡萄中提取出来的，麦芽糖是用麦芽来制备的。单糖的名称是糖类化合物名称的一个基础，例如葡聚糖，表示由葡萄糖组成的多糖。

单糖是多羟基的醛或酮的化合物，一般不用有机化学系统命名，除少数简单的如羟基乙

醛、甘油醛、二羟丙酮按基团命名外，每种单糖给它一个通俗名称，例如果糖、核糖、赤藓糖。另外根据单糖分子含有的碳原子数，分别称乙糖、丙糖、丁糖、戊糖、己糖、庚糖等。乙糖即羟乙醛，这是唯一的只有一个羟基的糖类化合物，这种名称泛指同碳数的单糖。为了区别同碳数的糖，又可以根据糖分子中的羰基位置，分成醛糖和酮糖。葡萄糖是典型的己醛糖，果糖是己酮糖。

还有一些非典型的单糖，例如分子中碳原子上的羟基被氢原子取代的核糖称为脱氧核糖，它们的名称是以典型单糖为基本名称，再把结构上的差别加以说明。

下面是常见的几个单糖的分子结构式：

羟基乙醛（乙糖）	甘油醛（丙糖）	赤藓糖（丁糖）	核糖（戊糖）
CHO | CH_2OH	CHO | HCOH | CH_2OH	CHO | HCOH | HCOH | CH_2OH	CHO | HCOH | HCOH | HCOH | CH_2OH

葡萄糖（己醛糖）	果糖（己酮糖）	岩藻糖（己醛糖）	脱氧核糖（戊醛糖）
CHO | HCOH | HOCH | HCOH | HCOH | CH_2OH	CH_2OH | C=O | HOCH | HCOH | HCOH | CH_2OH	CHO | HOCH | HCOH | HCOH | HOCH | CH_3	CHO | HCH | HCOH | HCOH | CH_2OH

二、单糖的立体结构

1. 立体异构体

分子不对称的化合物，具有使平面偏振光的振动方向发生旋转的能力。在旋光仪中测定，起偏振镜和检偏振镜先调至正交，视场暗，不对称化合物插入后视场变亮，如检偏振镜以顺时针方向旋转使视场复原变暗者为右旋化合物，反之以逆时针方向旋转复原者为左旋化合物。

单糖分子是不对称化合物，具有旋光性。在结构上，一般可以从存在不对称碳原子来判断分子的不对称性。不对称碳原子上联结四个不同的原子或基团。甘油醛是一个三碳糖，2 位碳上联结着一个氢和三个不同的基团，因而是一个不对称碳原子。这个碳上的羟基有两种安排，一种在右边，另一种在左边，所以就有立体结构不同的二个异构体：D-甘油醛和 L-甘油醛。

异构体的这种差别是构型上的不同。甘油醛 2 位羟基写在右边开始定义为 D-型，羟基写左边的为 L-型，以后由 X-衍射测定确定下来。D-型和 L-型因互成镜影，称为“对映体”。D-甘油醛是右旋的，用“+”或“*d*”符号表示，L-甘油醛是左旋的，用“-”或“*l*”为符号表示。

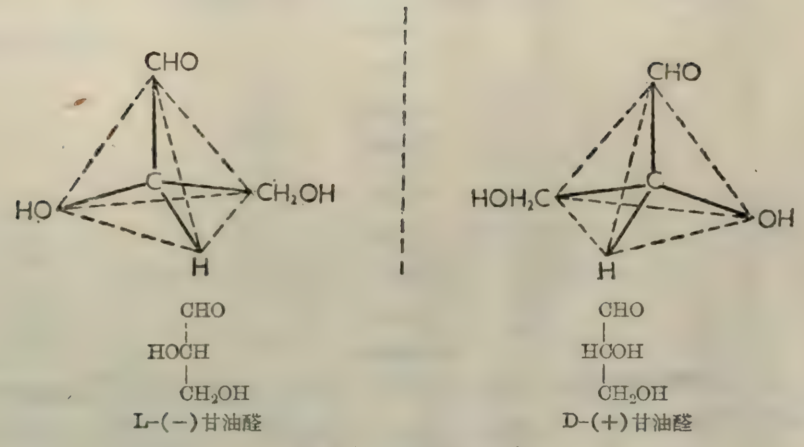


图 2-1 甘油醛的对映体

单糖分子中除羟基乙醛和二羟丙酮外都有不对称碳原子。含有 n 个不对称碳原子的化合物可以有 2^n 种立体异构体(见表 2-1, 2-2)。

表 2-1 D-系醛糖(开链)

D-甘油醛：CHO—HCOH—CH_2OH

→ D-赤藓糖：CHO—HCOH—HCOH—CH_2OH

→ D-苏阿糖：CHO—HOCH—HCOH—CH_2OH

D-赤藓糖 → D-核糖：CHO—HCOH—HCOH—HCOH—CH_2OH

D-赤藓糖 → D-阿拉伯糖：CHO—HOCH—HCOH—HCOH—CH_2OH

D-苏阿糖 → D-木糖：CHO—HCOH—HOCH—HCOH—CH_2OH

D-苏阿糖 → D-来苏糖：CHO—HOCH—HOCH—HCOH—CH_2OH

D-核糖 → D-阿洛糖：CHO—HCOH—HCOH—HCOH—HCOH—CH_2OH

D-核糖 → D-阿卓糖：CHO—HOCH—HCOH—HCOH—HCOH—CH_2OH

D-阿拉伯糖 → D-葡萄糖：CHO—HCOH—HOCH—HCOH—HCOH—CH_2OH

D-阿拉伯糖 → D-甘露糖：CHO—HOCH—HOCH—HCOH—HCOH—CH_2OH

D-木糖 → D-古洛糖：CHO—HCOH—HCOH—HOCH—HCOH—CH_2OH

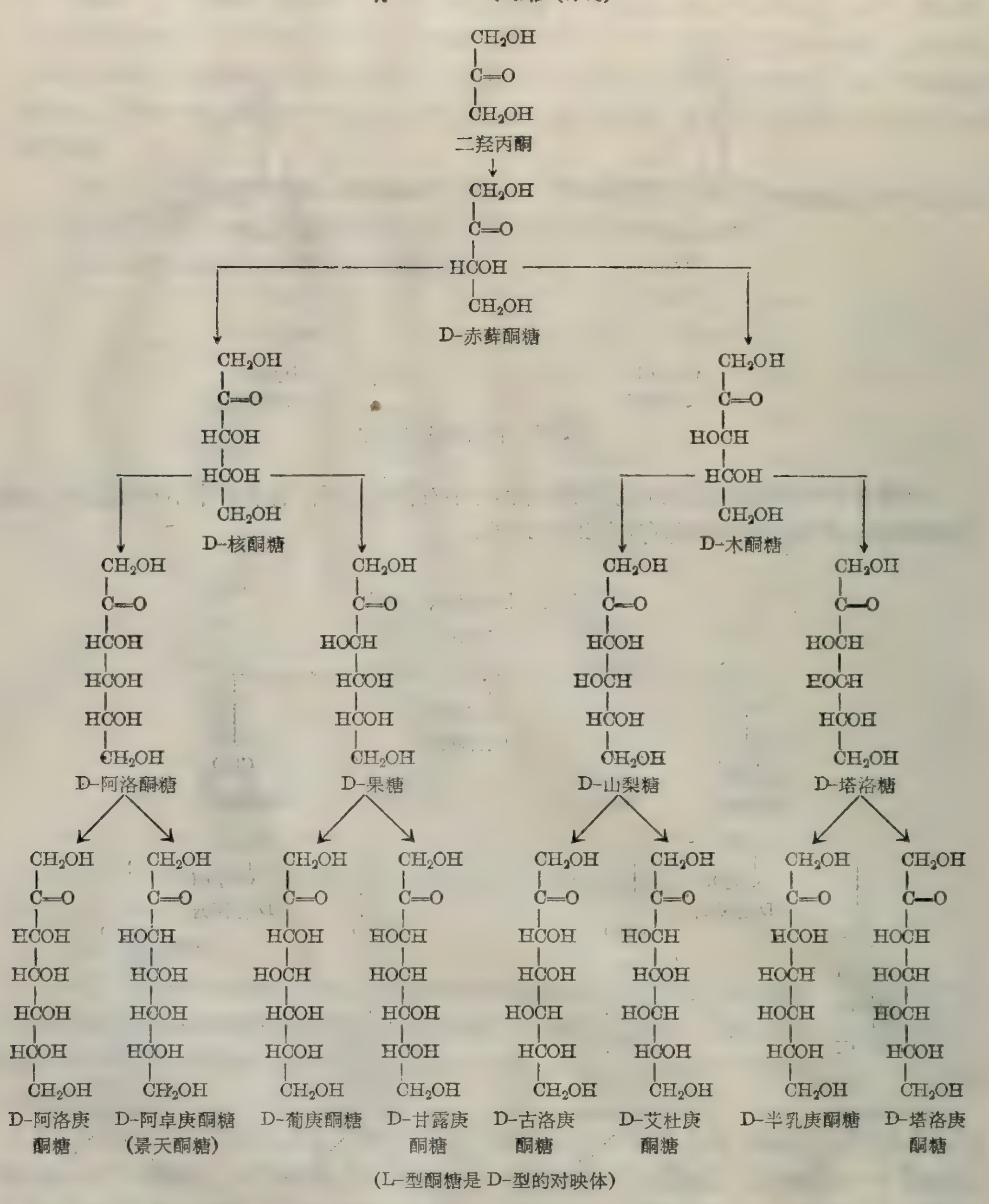
D-木糖 → D-艾杜糖：CHO—HOCH—HCOH—HOCH—HCOH—CH_2OH

D-来苏糖 → D-半乳糖：CHO—HCOH—HOCH—HOCH—HCOH—CH_2OH

D-来苏糖 → D-塔洛糖：CHO—HOCH—HOCH—HOCH—HCOH—CH_2OH

(L-型醛糖是 D-型的对映体)

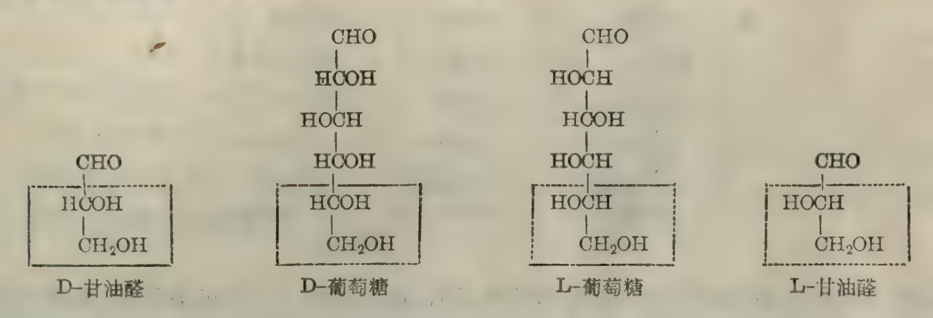
表 2-2 D-系酮糖 (开链)



(L-型酮糖是 D-型的对映体)

葡萄糖的结构式中，2，3，4，5 位上的是不对称碳原子。分子中具有四个不对称碳原子，就可以有 2^4 个异构体。单糖分子的 D、L-构型，是由离羰基最远的不对称碳原子上的羟基方向来确定的。一般以甘油醛的构型为标准，与 D-甘油醛的 2-羟基方向一致的（写在右边）为 D-型，与 L-甘油醛的 2-羟基方向一致的（写在左边）为 L-型，这样葡萄糖的十六个立体异构体，可根据 5 位碳上羟基的方向，分成八对对映体，即 D-型八个，L-型八个。每一对对映体的名字是：阿洛糖，阿卓糖，葡萄糖，甘露糖，古洛糖，艾杜糖，半乳糖，塔洛糖。它们的

结构式见表 2-1。由此可知葡萄糖只不过是八对异构体中的一对，D-葡萄糖和 L-葡萄糖这一对对映体的构型如下：



天然产物的单糖大多只存在一种构型。葡萄糖、果糖、核糖都是 D-型的，而它们的对映体 L-型，只不过为了证明结构或有特殊用途时，由化学合成出来的。因此天然的单糖的构型，并非任何时候都必须注明的。

2. 葡萄糖的环状结构

(1) 变旋现象　比旋值 $[\alpha]_D^t$ 是旋光化合物的物理常数。旋光性不同的化合物，它们的比旋值是不相同的。一个化合物的比旋值可以从一定浓度的溶液中测出的旋光度按照下式换算求出：

$$[\alpha]_D^t=\frac{\alpha\times100}{l\times C}$$

式中：α——测得的旋光度；

D——钠光波长为 5896Å 与 5890Å；

t——指定的温度，一般为 20°C；

l——装液的测定管长，单位为分米(dm)；

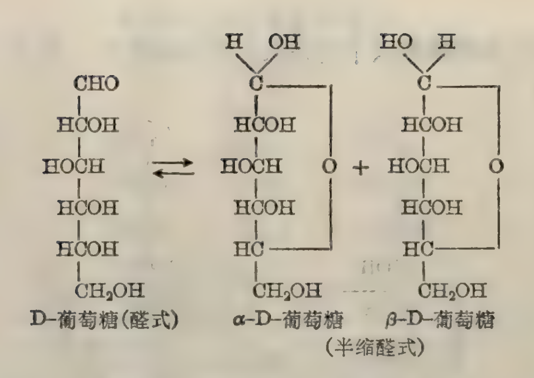
C——100 毫升溶剂中含有糖的克数。

D-葡萄糖在不同条件下得到的结晶，比旋值是不相同的。室温时，从水溶液结晶出来的 D-葡萄糖 $[\alpha]=+113.4$；而从吡啶溶液结晶出来的 D-葡萄糖 $[\alpha]=+19.7$；如果把这两种不同的结晶分别在水中放置一些时间后，可以观察到比旋值发生变化，它们的比旋值都变成 $[\alpha]=+52.5$。这种类型的旋光变化称为“变旋现象”。

(2) 糖的半缩醛式　一个化合物的比旋值既然是一个常数，那末，葡萄糖为什么因结晶的方法不同而有不同的比旋值并发生变旋？如果根据前面的葡萄糖的结构，无法用异构化来解释变旋现象。葡萄糖分子中存在羟基和醛基，假定考虑它们如同简单的醇和醛发生半缩醛反应：

$$\underset{\text{醛}}{R_1-\overset{\displaystyle H}{\overset{|}{C}}=O}+\underset{\text{醇}}{HO-R_2}\rightleftharpoons\underset{\text{半缩醛}}{R_1-\overset{\displaystyle H}{\overset{|}{\underset{\displaystyle \underset{|}{} OR_2}{C}}}-OH}$$

这样，便可能产生新的立体异构体。实际上，天然状态的葡萄糖正是由 5 位碳上的羟基与醛基在分子内形成半缩醛。按照这种半缩醛式的结构，葡萄糖端位的碳原子就成为不对称碳原子，于是 D-葡萄糖的 1 位碳上羟基，有两种安排，可以分为 α-D-葡萄糖和 β-D-葡萄糖。



D-葡萄糖(醛式)　α-D-葡萄糖　β-D-葡萄糖

(半缩醛式)

α型、β型分别表示糖分子环化成半缩醛式时，羰基的碳上产生的异构体。此碳上的羟基与5位碳上的羟基在相同方向的为α型，β型的羟基方向则相反。由此可见变旋现象的产生是α型向β型转化，β型向α型转化，最后达到平衡的过程。α-葡萄糖的[α]＝+113.4，β-葡萄糖的[α]＝+19.7。在α型与β型相平衡的体系中，α型占37%，β型占63%，醛式约0.1%，此时[α]＝+52.5。

$$\underset{37\%}{\alpha\text{-D-葡萄糖}} \rightleftharpoons \underset{63\%}{\beta\text{-D-葡萄糖}} \rightleftharpoons \underset{0.1\%}{\text{醛式 D-葡萄糖}}$$

其他的单糖，形成半缩醛后，都有α、β型异构体和变旋现象。它们的比旋值见表2-3。

表2-3　几个单糖的比旋值[α]

名　　称	α　　型	β　　型	平　　衡
D-葡萄糖	+113.4	+19.7	+52.2
D-半乳糖	+144	+15.4	+80.2
D-甘露糖	+34	−17.0	+14.2
D-果　糖	−21	−132	−92.4

(3) 环状结构　从葡萄糖的半缩醛式的结构可以看出它是一个环状结构，即由氧原子连接1位碳与5位碳组成含氧六元环，由于这种环与吡喃结构相似，称为吡喃环，因此环状葡萄糖也叫吡喃型葡萄糖。它们的结构式表示如下：

吡喃　α-D-葡萄糖　α-D-吡喃葡萄糖

由5位碳上羟基与1位碳以氧桥形式组成环平面的吡喃型结构中，碳的序数按顺时针方向表示，羟基位置在环下面的相当于直链式右面，环上面相当于直链式左面位置。当醛式

形成环式时，碳-碳链间角度转动结果，使连接在5位碳的氢原子处于环的下面，而羟甲基即6位碳位置处于环的上面。另外，α-葡萄糖的1位碳上羟基，可以参照4位碳上羟基的位置，应处于同一方向。因为葡萄糖4位与5位羟基在醛式中是同一方向的，故α型羟基在环平面之下，而β-型在环平面之上。根据上述原则，半乳糖的α型的1位碳上羟基与4位羟基方向应该相反，因为半乳糖的4位羟基与5位羟基在醛式中方向是相反的。

环状单糖也有五元环的。己糖中的果糖，2位酮基与5位羟基形成的半缩醛，是五元环，核糖是个5碳糖，1位醛基与4位羟基形成的半缩醛，也是五元环。含氧五元环相当呋喃环，因此可称为呋喃型单糖。

呋喃　　β-核糖　　β-呋喃核糖

下面是几个常见单糖的环状结构：

α-D-葡萄糖　　α-D-甘露糖　　α-D-半乳糖

β-D-脱氧核糖　　β-D-核糖

β-D-呋喃果糖　　β-D-吡喃果糖

3．葡萄糖的构象

根据X光衍射法测定，葡萄糖的吡喃环与环己烷的椅式构象相似，环上的五个碳一个氧不在一个平面上。环状结构未能把这个特点表达出来，葡萄糖的结构的形象，可用构象表示如下：

环己烷的椅式构象　　β-葡萄糖的构象

环己烷　　β-葡萄糖

比较葡萄糖的构象和常用的环状结构式，可以知道碳序数表示法二者是相同的，都采用顺时针方向；羟基上下位置也是一致的，例如2-位羟基在环的下面，同样在构象中也在下面，3-位羟基在环的上面，在构象中也在上面。葡萄糖的构象，能够表达环上不在同一平面上的六个原子的相对位置。在构象中，每一个碳原子所连接羟基和氢的两个键是不同的，一种是直立键（a-键）与椅面相垂直，另一种是平伏键（e-键）与椅面相平伏。这两种键的稳定性有所不同，一般说来，平伏键比直立键要稳定一些。从构象中也可以看出，直立键与邻近的直立键之间的距离较小，因此在直立键上的原子或基团相互的斥力比较大一些。平伏键与邻近平伏键之间距离相对远一些，因而这上面的基团的斥力也就小一些。β-葡萄糖1位碳上的羟基是在平伏键上，而α-葡萄糖1位碳上的羟基是在直立键上，因此β-葡萄糖就比α-葡萄糖稳定。在"变旋现象"提到的平衡体系的组分中由于β型比较稳定，因此所占的比例就远大于α型。

β-葡萄糖　　α-葡萄糖

三、单糖的衍生物

生物体内的单糖，有部分基团发生增减和变化，这种化合物称为单糖衍生物。单糖衍生物在结构上常有它的特点。

1．单糖的磷酸酯

生物体内的一些单糖往往以磷酸酯的形式参加代谢，常见的磷酸葡萄糖、磷酸果糖，它们的磷酸在1位或6位碳上。核糖的磷酸主要是在5位或3位碳上。为了书写方便，磷酸酯常用-OⓅ来表示。当1位碳上写作HOH，表示对α型、β型不作区别。

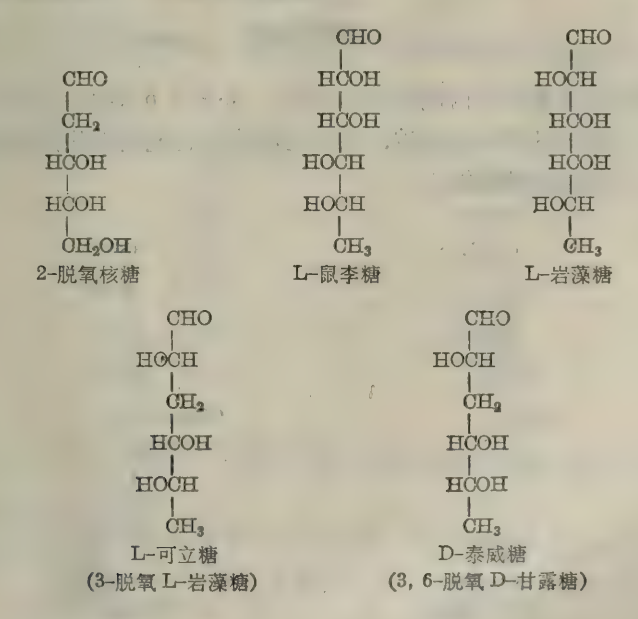
葡萄糖-6-磷酸

果糖-1，6-二磷酸

核糖-5-磷酸

2. 脱氧单糖

重要的脱氧单糖是2-脱氧核糖，它是核酸的组分。如果在末端位碳上羟基脱去氧，就成为甲基糖，这些甲基糖常有一个通俗名字，例如L-鼠李糖，L-岩藻糖，L-可立糖，D-泰威糖等。其中L-鼠李糖常见于一些糖苷的糖基。



2-脱氧核糖　　L-鼠李糖　　L-岩藻糖

L-可立糖（3-脱氧L-岩藻糖）　　D-泰威糖（3，6-脱氧D-甘露糖）

3. 氨基糖

在多糖组成中常见的氨基糖，主要有氨基葡萄糖和氨基半乳糖，也称葡糖胺和半乳糖胺。由于氨基取代是2位碳上的羟基，所以全称是2-脱氧氨基葡萄糖和2-脱氧氨基半乳糖。氨基糖的氨基有的是乙酰化的：

氨基葡萄糖(葡糖胺)　　　　乙酰氨基葡萄糖

氨基半乳糖(半乳糖胺)　　　　乙酰氨基半乳糖

胞壁(糖)酸(muramic acid) 是由氨基葡萄糖的3位羟基与乳酸的羟基失水以醚键相联而成的化合物。它以乙酰胞壁酸的形式存在于细菌胞壁质中。

乙酰胞壁(糖)酸

神经氨(糖)酸是甘露糖胺与丙酮酸的加合物。全名是5-氨基-3, 5-二脱氧-D-甘露丙酮酸型壬酮糖酸。自然界没有神经氨酸，只有乙酰或羟乙酰基取代的神经氨酸，统称唾液酸,存在于粘蛋白、红细胞膜的糖链上。

```
      COOH                   COOH
      |                      |
      C=O                    C=O
      |                      |
      CH2                    CH2
      |                      |
     HCOH               O   HCOH
      |                 ‖    |
   NH2CH             CH3CNHCH
      |                      |
     HOCH                   HOCH
      |                      |
     HCOH                   HCOH
      |                      |
     HCOH                   HCOH
      |                      |
      CH2OH                  CH2OH
```

神经氨(糖)酸　　　　唾液酸

4. 糖酸

(1) 葡糖酸　醛糖氧化成相应的糖酸、糖醛酸和糖二酸,常见的有葡糖酸、葡糖醛酸、葡糖二酸。

葡糖酸	葡糖醛酸	葡糖二酸
COOH	CHO	COOH
HCOH	HCOH	HCOH
HOCH	HOCH	HOCH
HCOH	HCOH	HCOH
HCOH	HCOH	HCOH
CH_2OH	COOH	COOH

糖酸是一种比较强的有机酸，常以内酯形式存在，糖酸的盐能溶于水，溶液呈中性。葡(萄)糖酸和葡糖醛酸都是机体的代谢中间物，作为药物，葡糖酸钙用于消除过敏，补充钙质；葡糖醛酸是动物体内的解毒剂，能与进入体内的或代谢分解物中含羟基的有害化合物结合，形成葡糖醛酸的糖苷(葡苷酸)或酯类随尿排出。

葡糖醛酸内酯　　葡糖酸内酯

葡糖酸钙	葡糖醛酸
$COO(Ca)_{\frac{1}{2}}$	CHO
HCOH	HCOH
HOCH	HOCH
HCOH	HCOH
HCOH	HCOH
CH_2OH	COOH

葡萄糖氧化可以得到葡糖酸。实验室中用次碘酸钠或溴水使葡萄糖的醛基氧化成葡糖酸。

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + NaOI \longrightarrow \begin{array}{c} COONa \\ | \\ HCOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

大量制备时，可利用葡萄糖氧化酶把葡萄糖氧化成葡糖酸，也可以用电解氧化葡萄糖的方法。

葡糖醛酸不能用直接氧化葡萄糖的方法制得，因葡糖中醛基比羟基更容易被氧化。用硝酸作为氧化剂与葡萄糖作用，得到的是葡糖二酸。工业上以淀粉为原料，用硝酸氧化，淀粉中葡糖基上 6 位羟基氧化成羧基，并且在反应的过程中发生水解，1 位的醛基则游离出来，这样就产生葡糖醛酸。

(2) 抗坏血酸　这是一种比较特殊的糖酸，存在于植物和某些动物体内，从结构式上看是含有双键的古洛糖的糖酸。抗坏血酸又叫维生素 C，是人类必需的维生素。它的结构式如下：

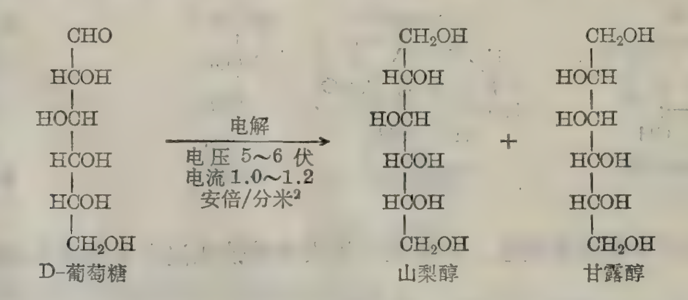
```
O=C ——┐
  |   |
 HOC  |
  ‖   O
 HOC  |
  |   |
  HC ——┘
  |
 HOCH
  |
  CH2OH
```

工业上用葡萄糖为原料,采用化学与发酵法相结合的半合成工艺生产抗坏血酸。其过程如下:

$$\text{D-葡萄糖} \longrightarrow \text{D-山梨醇} \xrightarrow[O_2]{\text{黑醋酸菌}} \text{L-山梨糖} \xrightarrow[O_2]{\text{假单胞菌}} \text{2-酮古洛糖} \xrightarrow{\text{HCl 转化}} \text{抗坏血酸。}$$

5. 糖醇和肌醇

(1) 糖醇　是单糖的还原产物。具有应用价值的甘露醇和山梨醇,可以从葡萄糖还原制得。在催化剂镍存在下,氢化葡萄糖得到山梨醇;用电解法时,葡萄糖的还原产物中主要是山梨醇,也有部分甘露醇。甘露醇一般是从海藻中提取的,也能通过米曲霉发酵法制得。



山梨醇是制造抗坏血酸的原料,在某些方面可代替甘油。甘露醇是降低颅内压的药物,使脑膜炎和乙型脑炎病人神志清楚,减轻后遗症,也用于治疗急性青光眼、防治急性肾功能衰竭等疾病。甘露醇是一种药用辅料,用于制备片剂;在制备生化药物的粉型针剂中可代替明胶。

表 2-4　肌醇的异构体

异构体	向上羟基位子	异构符号
顺-肌醇	1, 2, 3, 4, 5, 6	cis
表-肌醇	1, 2, 3, 4, 5	epi
别-肌醇	1, 2, 3, 4	allo
肌-肌醇	1, 2, 3, 5	myo
粘-肌醇	1, 2, 4, 5	muco
新-肌醇	1, 2, 3	Neo
D-(手性)-肌醇	1, 2, 4	D-chiro
L-(手性)-肌醇	1, 2, 4	L-chiro
间-肌醇	1, 3, 5	scyllo

对称面

OH　OH　H　H　H　OH　HO　OH　H　H　H　OH

肌-肌醇

(肌-环己六醇)

(2) 肌醇　肌醇是环己六醇，结构上可以排出九个立体异构体，其中七个是内消旋化合物，二个是旋光对映体。广泛分布在动植物和微生物体中的肌-肌醇 (myo-inositol) 是一个内消旋的异构体。肌醇的异构体列于表 2-4 中。

在生物体中，还可找到 D-肌醇、L-肌醇和间-肌醇三种异构体，但含量极为有限。肌醇的异构体中具有生物活性的只有肌-肌醇，一般就称它为肌醇。它对脂质类和糖类代谢有调节作用，是一种 B 族维生素。肌醇通常以游离形式存在于动物的肌肉、心脏、肝、肺等组织中，同时也有与几个磷酸结合成磷酸肌醇。在低等植物中主要的形式是磷酸肌醇，高等植物中，肌醇的六个羟基都成磷酸酯——肌醇六磷酸和肌醇六磷酸的钙镁盐，后者又叫菲丁，存在于玉米浸泡水中，是生产玉米淀粉的副产物。

6．糖苷

在生物体内，单糖是很活跃的，所以主要以结合的方式存在，除形成多糖外，还和非糖物质结合成糖苷后被保留下来。

糖苷是单糖的半缩醛上羟基与非糖物质缩合形成的缩醛等形式的化合物。糖苷的非糖物质称配基或非糖体。自然界中糖苷有二种类型：O-糖苷和 N-糖苷。配基以氧原子与糖基连结的为 O-糖苷，例如 α-甲基葡萄糖苷，简称 α-甲基葡糖苷或称葡糖甲苷。配基以氮原子与糖基连结的为 N-糖苷，主要是核糖的糖苷，例如 β-腺嘌呤核(糖)苷。

CH₂OH, H, O, H, OH, H, HO, OCH₃, H, OH

α-甲基葡萄糖

NH₂, N, C, N, HC, N, CH, N, HOH₂C, O, H, H, HO, H, HO, OH

β-腺嘌呤核苷

糖苷键的 -C-O-C- 在形式上似醚键，但性质上接近缩醛。因此容易被酸水解成相应的糖和配基。

$$\text{糖苷}+\text{水} \overset{H^+}{\rightleftharpoons} \text{糖}+\text{配基}$$

配基在糖苷分子中，与半缩醛羟基位置相应，有 α 型和 β 型两种异构体。糖苷的构型是稳定的，异构体在水中不发生变旋作用。常见的糖基有葡萄糖、半乳糖、鼠李糖。非糖体则可以有许多种类型的化合物。

糖在糖苷中的作用，大致有几种情况：

(1) 由于糖的亲水性质，糖苷比单独的非糖体有较高的溶解度。

(2) 由于糖与生物体的组织有亲和性，能增加非糖体的功效，例如强心糖苷中的糖能够增强生理效果。

(3) 有些含糖组分是糖苷的必要组成，当糖苷中的一种糖改变为另一种单糖或它的衍生物时，便成为有对抗作用的物质。

(4) 有一些含有非糖体的药物是无生理活性的，经过水解产生活性物质，这种药称为反应性药物。

总的说来，糖苷的化学性质和生物功能主要是由非糖体所决定的。例如花卉的颜色取决于花色糖苷的非糖体——花色素；强心毒苷具有强心作用，是它的非糖体的功能；有溶血作用的皂苷，也是非糖体起作用的。一些非糖体的结构列于表 2-5。

表 2-5　一些植物糖苷的非糖体

化学结构	名称	功用
	花青素(花色素类)	花卉的色素
	芸香苷配基(黄酮类)	芦丁，维生素 P
	苦杏仁苷配基	苦杏仁酶产物
	香草醛	香料
	绿毒毛旋花子苷配基（强心毒苷类）	强心药物
	菝葜皂苷配基(皂苷类)	溶血作用，表面活性
	赤霉酸(赤霉素 A_3)	植物生长素

四、单糖的性质

1. 还原性

单糖的醛基有还原性。单糖的酮基，由于相邻的二个碳上有羟基，因此也具有还原性。环式结构中的半缩醛羟基，在还原性质上是与醛、酮等同的，因此含有游离的半缩醛羟基的糖称为还原糖。例如葡萄糖能够使碱性的二价铜离子还原成氧化亚铜，也能够使银氨溶液产生银镜反应，葡萄糖则变成葡萄糖的糖酸。

$$2Cu(OH)_2 + \text{葡萄糖} \longrightarrow Cu_2O + \text{葡糖酸}$$

$$Ag(NH_3)_2OH + \text{葡萄糖} \longrightarrow Ag + NH_4OH + \text{葡糖酸}$$

由于在环式结构与醛式结构之间存在着动态平衡，因此，随着醛基被氧化，平衡打破，环式结构转化成醛式结构，半缩醛羟基就成游离的醛基，所以氧化还原反应得以进行到底。

还原糖的定量可用碱性铜试剂与碘容量法结合进行，缺点是每克分子单糖与所消耗的试剂并没有一定的克当量关系，但如果将实验条件严格控制，糖的相对含量仍具有重复性。

2. 苯肼反应

苯肼是单糖的定性试剂。单糖与苯肼反应后有沉淀产生，故可检出溶液中单糖。常温时，糖与一分子苯肼缩合成糖的苯腙；在过量的苯肼试剂中加热反应，糖与二分子苯肼的缩合物叫糖脎。

甘露糖与苯肼的成苯腙反应：

```
CHO                                          HC=N—NH—C6H5
HOCH                                         HOCH
HOCH    +  C6H5—NHNH2  ——→                   HOCH      + H2O
HCOH                                         HCOH
HCOH                                         HCOH
CH2OH                                        CH2OH
甘露糖        苯肼                             甘露糖苯腙
```

葡萄糖与二分子苯肼的成脎苯肼反应：

```
CHO                                          HC=NNH—C6H5
HCOH                                         C=NNH—C6H5
HOCH    +  2 C6H5—NHNH2  ——→                 HOCH
HCOH                                         HCOH
HCOH                                         HCOH
CH2OH                                        CH2OH
葡萄糖        苯肼                             葡糖脎
```

果糖和甘露糖所成的糖脎与葡糖脎是相同的。糖脎的溶解度小，容易得到结晶，不同的糖脎晶体形状不同，熔点也不同，所以可用来定性鉴定。

3. 强酸作用

单糖在稀酸溶液中是稳定的，但在稀酸中加热或在强酸作用下颜色变深。戊糖和己糖

在浓酸或稀酸中加热发生脱水环化，分别形成呋喃甲醛和羟甲基呋喃甲醛。

```
 H   H   H   H                         HC——CH
HC—C—C—C—CHO    —3H2O→    ‖      ‖
 |   |   |   |                         HC     C—CHO    呋喃甲醛
OH  OH  OH  OH                           \  /
                                          O
      戊糖

          H   H   H   H                           HC——CH
HOH2C—C—C—C—C—CHO   —3H2O→         ‖      ‖
          |   |   |   |                    HOH2C—C     C—CHO   羟甲基呋喃甲醛
         OH  OH  OH  OH                            \  /
                                                    O
               己糖
```

呋喃甲醛又名糠醛，是一种化工原料，用于合成塑料、药物、染料和溶剂。它的水溶液可以抑制小麦黑穗病。玉米棒芯含有丰富的多聚戊糖，工业上，将玉米棒芯用稀酸在高温高压下水解、脱水和蒸馏制成糠醛。

不同的单糖脱水成相应的呋喃甲醛类化合物，它们能与多酚等试剂形成有色物质，如在强烈的反应条件下则易聚合成褐色焦油状物质。不同的单糖在反应后，颜色也不相同，因此常用来测定糖类物质。糖的呈色试剂和特点见表 2-6。

表 2-6　糖的呈色试剂

试　　剂	反 应 的 单 糖	特　　点
α-萘酚 色氨酸 氨基胍	醛糖和酮糖	酮糖灵敏
间苯二酚	己 酮 糖	
半胱氨酸-咔唑	己酮糖，戊酮糖，二羟酮糖，甲基戊糖	
咔　唑	糖醛酸，脱氧戊糖等	不同糖，颜色不同
半胱氨酸-硫酸	己糖，多糖等	不同糖，颜色不同
蒽　酮	己糖，多糖等	不同糖，颜色不同
甲基二酚(2，4-二羟甲苯)	戊糖，庚酮糖，糖醛酸	糖醛酸脱羧成戊糖
间萘二酚	糖 醛 酸	
乙酰丙酮-对二甲氨基苯甲醛	氨基己糖	
亚硝酸-吲哚	氨基己糖	氨基糖的氨基在亚硝酸反应前无呈色反应
二 苯 胺	脱氧核糖，二脱氧核糖	
色氨酸-高氯酸	脱氧戊糖	
吲哚-盐酸	脱氧戊糖	
无色品红	脱氧戊糖	

4. 碱溶液作用

(1) 浓碱溶液中的单糖很不稳定，能发生裂解、聚合、异构化。由这些反应所产生的分子大小不同的杂质，可达百种之多。

(2) 稀碱溶液中的单糖在常温时发生异构化，例如通过烯醇化产生差向异构体。差向

异构体的差别是单糖的不对称碳原子中的一个碳上的羟基在方向上有不同。葡糖与甘露糖互为差向异构体。葡萄糖在稀碱溶液中异构化产生果糖、甘露糖和山梨糖。在这个异构化反应的平衡体系中，主要的成分是果糖和葡萄糖，其他单糖的量很少。

$$
\begin{array}{c}
H \\ O{=}C \\ | \\ H{-}COH \\ | \\ HOCH \\ | \\ R \\ \text{D-葡萄糖}
\end{array}
\rightleftharpoons
\begin{array}{c}
H \\ HOC \\ \| \\ COH \\ | \\ HOCH \\ | \\ R \\ \
\end{array}
\rightleftharpoons
\begin{array}{c}
CH_2OH \\ | \\ C{=}O \\ | \\ HOCH \\ | \\ R \\ \text{D-果糖}
\end{array}
\rightleftharpoons
\begin{array}{c}
CH_2OH \\ | \\ COH \\ \| \\ HOC \\ | \\ R \\ \
\end{array}
$$

$$
\begin{array}{c}
H \\ C{=}O \\ | \\ HOCH \\ | \\ HOCH \\ | \\ R \\ \text{D-甘露糖}
\end{array}
\rightleftharpoons
\begin{array}{c}
H \\ COH \\ \| \\ HOC \\ | \\ HOC \\ | \\ R \\ \
\end{array}
\qquad
\begin{array}{c}
CH_2OH \\ | \\ C{=}O \\ | \\ HCOH \\ | \\ R \\ \text{D-山梨糖}
\end{array}
$$

$$
R:\ \begin{array}{c}
| \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH
\end{array}
$$

(3) 单糖在氨水中作用和在稀碱溶液中相似，会发生差向异构化。在 37℃ 时，葡萄糖在氨水中可以分离出果糖、山梨糖、甘露糖和 D-阿拉伯糖。延长反应时间还可以产生氨基糖以及吡嗪、咪唑杂环等约 50 多种化合物。

形成氨基脱氧糖的反应如下：

$$
\begin{array}{c}
CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \\ \text{D-葡萄糖}
\end{array}
\xrightarrow{NH_4OH}
\begin{array}{c}
H \\ H_2N{-}C{-}OH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \\ \text{D-葡糖胺}
\end{array}
\xrightarrow{-H_2O}
\begin{array}{c}
CH_2NH_2 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \\ \text{1-氨基脱氧果糖}
\end{array}
$$

$$
\begin{array}{c}
CH_2OH \\ | \\ C{=}O \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \\ \text{D-果糖}
\end{array}
\xrightarrow{NH_4OH}
\begin{array}{c}
CH_2OH \\ | \\ H_2NCOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \\ \text{D-果糖胺}
\end{array}
\longrightarrow
\begin{array}{c}
CHO \\ | \\ HCNH_2 \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \\ \text{2-氨基脱氧葡糖}
\end{array}
$$

二份 2-氨基脱氧葡糖 $\xrightarrow{-2H_2O}$ $\xrightarrow{-H_2O}$ 吡嗪化合物

2-氨基脱氧葡糖 + 1-葡萄糖胺 $\xrightarrow{-2H_2O}$ $\xrightarrow{加热}$ 咪唑化合物

R: $-CH(OH)-CH(OH)-CH_2OH$

除此之外，氨与单糖缩合并通过一系列反应，产生棕褐色的聚合物。我国传统上用于配调酱油风味和着色用的“酱色”就是用糖和氨水加热，发生“变褐色反应”后所得到的成分复杂的混合物。

含氨基的化合物例如氨基酸，也能与糖作用形成酱色物质。在果食品罐头保藏和加工方面，因食品中的单糖和氨基酸类物质同时存在，易发生上述反应而色泽变深并使氨基酸类的营养成分降低。如果添加葡萄糖氧化酶，使游离的葡萄糖氧化成葡萄糖酸，就可以防止由这种原因而引起的变质。

五、单糖的分析

动植物的体液、汁液以及微生物发酵液都是含有单糖的溶液。样品中的单糖可以利用苯肼试剂成腙或成脎反应产生沉淀等方法来检出。

单糖的含量，可用碱性铜试剂与碘容量法结合来测定。此外，在工业中常规测定的是一种步骤较为简便的方法。这种方法是先将待测样品与含有亚甲蓝指示剂的铜试剂混合，然后由标准葡萄糖进行反滴定。用以上方法测定得到的是各种单糖以及一些有还原性的低聚糖的含量的总和，一般称为还原糖测定。为了弄清多糖或低聚糖的水解产物中单糖组成的种类和含量，则需经过分离，逐个确定各组分是哪种单糖，然后分别测出它们的含量。

单糖分离分析常用的有层析法，也可用电泳法。

1．纸上层析和薄层层析

层析法常用于单糖和单糖衍生物的微量分析(层析原理见蛋白质章)。在玻璃板上铺好硅胶或纤维素等制成的薄层，或在滤纸上点上样品，在适当的溶剂中层析展开，得到分离的斑点，经过显色呈现层析图谱。根据层析图谱中已知单糖的层析位置来鉴定待测样品的成分。例如，玉米芯的多糖水解物经薄层层析后，知其成分是木糖。图 2-2 表示玉米芯水解物以及任意六种已知单糖的层析图谱。

2．电泳

电泳法是一种利用混合物中的各种带电粒子成分在电场中移动速度不同而达到分离的

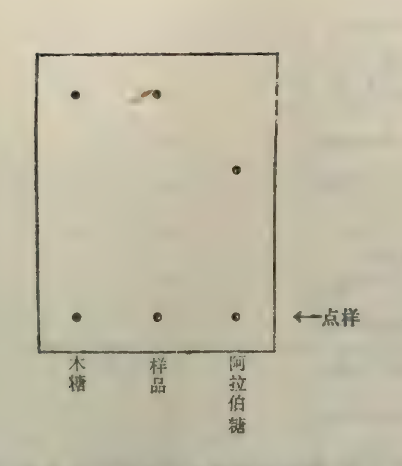


图 2-2a 玉米芯水解物的硅胶-石膏薄层层析

溶　剂：乙酸乙酯-异丙醇-水

显色试剂：二苯胺-苯胺-磷酸

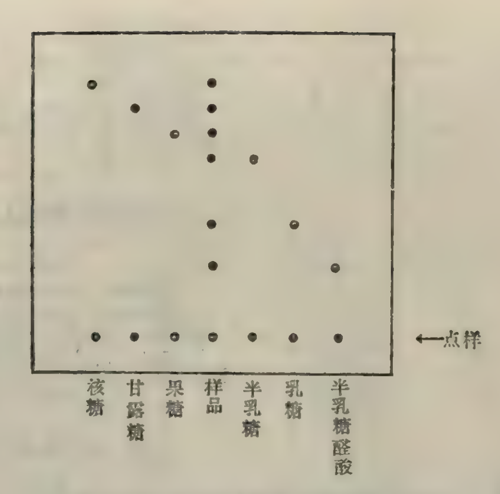


图 2-2b 六种单糖混合物的纸上层析

溶　剂：三甲基吡啶

显色试剂：碱性硝酸银

方法。单糖虽不带电荷，但在硼酸缓冲溶液中与硼酸络合后产生带电性。由于各种单糖-硼酸络合物的电泳速度不同，在硅胶载体上电泳后使各组分得到分离。电泳速度一般是双糖＞单糖＞糖醇。

经过分离的单糖可以用氧化还原法测定含量，也可以根据各种单糖选用相应的试剂显色，然后比色测定之。

第三节　低聚糖的化学

低聚糖是由二十个以下单糖基组成的，一般是多糖的水解产物。自然界以游离状态存在的低聚糖，主要是一些二糖、三糖，熟知的二糖有蔗糖、麦芽糖，三糖有棉籽糖。

一、低聚糖的结构和性质

1．二糖的结构

低聚糖是由少数几个单糖，通过糖苷键连接起来的化合物。二糖是最简单的低聚糖，它具有低聚糖的结构特点和一般性质。

由二个葡萄糖组成的糖统称葡二糖。葡二糖有十一个异构体，其中常见的有麦芽糖、纤维二糖、龙胆二糖。它们的结构式如下：

麦芽糖 [α-葡糖(1→4)α-葡糖]

纤维二糖[β-葡糖(1→4)α-葡糖]

龙胆二糖[β-葡糖(1→6)α-葡糖]

葡二糖在结构上的主要差别是糖苷键不同。从麦芽糖和纤维二糖的结构中可以看出一个是α-糖苷，一个是β-糖苷。比较纤维二糖和龙胆二糖的结构可以看出它们都是β型糖苷，彼此的差别在于纤维二糖的糖苷键是(1→4)相连的，龙胆二糖是(1→6)糖苷键。

乳糖是由半乳糖和葡萄糖组成的二糖，它的糖苷键是β(1→4)型的。

乳糖

通过上面二糖的例子可以知道，一个低聚糖结构需要从三个方面来说明：

(1) 由哪一个或哪几个单糖组成的；

(2) 指出是α-糖苷还是β-糖苷；

(3) 糖苷键连接在糖的哪个位置上。

根据这些结构特点对低聚糖命名，麦芽糖可称4-α-葡糖-α-葡糖苷；乳糖可称4-α-葡糖-β半乳糖苷。目前采用的命名法使命名与结构式更一致，α-麦芽糖称α-葡糖(1→4)α-葡糖；α-乳糖称β-半乳糖(1→4)α-葡糖。从乳糖命名中可以看出：(1→4)表示糖苷键连接的位置，括号前的半乳糖1位与括号后葡萄糖4位相接；半乳糖前的"β"表示半乳糖属于β型的，由于半乳糖1位碳(即半缩醛羟基)参加糖苷键，故形成β-糖苷键，因此乳糖是一个β-半乳糖苷；葡糖前的"α-"表示处于配基位置的葡萄糖是α型的即乳糖是α-型的，但游离的二糖常无须说明α还是β型，因此只要写β-半乳糖(1→4)葡糖。在配基位置上葡萄糖前不必注α或β。→所指的是配基上成键羟基的位置，并说明括号后的单糖处于配基地位。蔗糖分子，α-葡糖(1↔2)β-果糖的糖苷键用(1↔2)表示，↔前后二个糖基彼此以半缩醛或酮的羟基结合成糖苷键，因此二个糖基也可以看成是彼此的配基。表2-7是葡二糖和一些常见低聚糖的结构。

2. 一般性质

二糖中的单糖基有两种状态。一种是单糖基以它的半缩醛羟基结成糖苷键。另一种则保留了半缩醛羟基而以其他位置的羟基参与糖苷键。在二糖或低聚糖中保留半缩醛羟基单

表 2-7 葡二糖和一些低聚糖的结构和来源

名称	结构	来源
麦芽糖	α-葡糖(1→4)葡糖	淀粉水解(麦芽糖酶)产物
异麦芽糖	α-葡糖(1→6)葡糖	淀粉的酶法水解产物
槐二糖	β-葡糖(1→2)葡糖	
纤维二糖	β-葡糖(1→4)葡糖	纤维素,地衣的霉解产物
昆布二糖	β-葡糖(1→3)葡糖	昆布
龙胆二糖	β-葡糖(1→6)葡糖	龙胆根
海藻二糖	α-葡糖(1↔1)α-葡糖	海藻及真菌
蔗糖	α-葡糖(1↔2)β-果糖	植物
菊(粉)二糖	β-果糖(2→1)果糖	菊粉组成
乳糖	β-半乳糖(1→4)葡糖	哺乳动物的乳汁
别-乳糖	β-半乳糖(1→6)葡糖	乳糖经酵母异构化
蜜二糖	α-半乳糖(1→6)葡糖	棉籽糖
芦丁糖	β-鼠李糖(1→6)葡糖	芦丁糖苷
樱草糖	β-木糖(1→6)葡糖	白珠树
软骨素二糖	β-葡糖醛酸(1→3)半乳糖胺	软骨素组分
透明质二糖	β-葡糖醛酸(1→3)葡糖胺	透骨质酸组分
龙胆糖	β-葡糖(1→6)α-葡糖(1↔2)β-果糖	龙胆根
松三糖	α-葡糖(1↔2)β-果糖(3←1)α-葡糖	
棉籽糖	α-半乳糖(1→6)α-葡糖(1↔2)β-果糖	甜菜,糖蜜
野芝麻四糖	α-半乳糖(1→6)α-半乳糖(1→6)α-葡糖(1↔2)β-果糖	

糖基的称为还原糖，它们象游离的葡萄糖那样有还原性、变旋性和与苯肼成脎等性质。相反,缺乏游离半缩醛羟基的低聚糖称非还原糖,例如海藻二糖 α-葡糖(1↔1)α-葡糖，两个葡萄糖基彼此都是由半缩醛羟基结成糖苷键的，所以海藻二糖就没有象还原糖的上述反应性质。

对于非还原糖,如果在能够发生水解条件下做试验,要注意因水解产生单糖而出现的假象,误认为还原糖。

二、常见的二糖

1. 乳糖

哺乳动物的乳汁含有乳糖。人乳汁含乳糖约为5～7%。由牛奶制干酪时可以分离得到乳糖。嗜酸性乳酸杆菌能利用乳糖产生乳酸，使牛奶发酸。乳糖是一个 β-半乳糖苷，由半乳糖和葡萄糖组成的还原糖。

乳糖

乳糖在水中溶解度较小，没有吸湿性，在医药上，可用于易吸湿的药物的辅料，防止药物潮解。由于来源少，因此很少利用它。

2. 麦芽糖

麦芽糖是一个具有α-葡糖（1→4）葡糖结构的二糖，保留有一个游离的半缩醛羟基，属于还原糖。麦芽糖是饴糖中的主要成分，我国劳动人民早在商朝就已能制取饴糖。麦芽糖在动物消化道中，能水解成葡萄糖。

3. 蔗糖

蔗糖游离存在于水果中，具有α-葡糖苷(1↔2)β-果糖苷的结构，分子中的葡萄糖和果糖彼此以半缩醛的羟基缩合成糖苷键，在构型上既是α-葡糖苷，也是β-果糖苷，所以它是一个非还原糖。

蔗糖

我国制糖工业在解放后有很大发展，蔗糖的原料主要是甘蔗和甜菜。在甜菜中，除含有蔗糖外，还含有棉籽糖。棉籽糖是由一分子半乳糖和一分子蔗糖组成的，它不象蔗糖那样有甜味，但如果把棉籽糖水解，可以得到蔗糖，提高甜菜提取蔗糖的得率。

棉籽糖用酸或转化酶可水解得到果糖和密二糖。在α-半乳糖苷酶作用下棉籽糖水解成半乳糖和蔗糖。

棉籽糖

转化酶或酸

α-半乳糖苷酶

蜜二糖 + 果糖

蔗糖 + 半乳糖

甜味与蔗糖相当的异构糖是葡萄糖和果糖的混合物。因果糖的甜味度比蔗糖高，为葡萄糖甜味的一倍，葡萄糖异构成果糖，甜味增加，可作食糖用。在1% 浓度氢氧化钠溶液中或在葡萄糖异构酶作用下，葡萄糖就发生异构化，部分葡萄糖转化成果糖，因此异构糖与蔗糖水解产物，有相同的组分。

第四节　多糖的化学

一、自然界的多糖

多糖是由二十个单糖到上万个单糖组成的大分子。自然界中植物、动物、微生物都含有多糖，多糖除以游离状态存在外，也可以与蛋白质以结合形式存在。

植物是糖类物质的主要来源，植物体有 85～90% 为糖类，不同的组织部位，所含的多糖是不同的。在木质部中纤维素含量有 40～60%，叶和草中含量 15～30%，棉絮和麻纤维含量可达 70～98%。木质部分常与半纤维素、果胶质和木质素等结合在一起，见表 2-8。半纤维素是由几种戊糖和糖醛酸组成的杂多糖。果胶质是多聚半乳糖醛酸，高等植物的细胞壁和细胞间层，由果胶质粘合成整体，并使细胞壁对离子有通透作用。木质素不是糖类，是一些结构不一的酚类化合物，它与纤维素结合得很紧密。随着植物衰老程度增加木质素含量也增加，它作为填充物使植物的机械强度提高。

表 2-8　几类纤维植物主要成分的含量

(%)

名　　称	纤　维　素	半纤维素和其他多糖	木　质　素
木　　材	40～50	12～34	20～30
棉　　花	88～96	(果胶质) 6	—
亚　　麻	65～70	15～21	2～5
禾　　秆	31～40	35～48	15～25

棉麻的纤维是纺织品的原料，稻草、甘蔗渣的纤维一般被利用来造纸。植物纤维素的量是相当大的，在有机物质中，可占第一位。如能以较低的成本把它水解成葡萄糖，显然是令人响往的。

种子里的淀粉含量最丰富，通常达 50～70% 以上。块根和其他组织中的淀粉也有 4～25% 含量。淀粉是粮食的主要成分，可以看成是葡萄糖的天然储藏形式。它是食品、医药、纺织工业的主要原料和辅料。

微生物的某些多糖具有免疫活性。在针剂制备时，由微生物带入极微量的多糖物质，如果未经严格清除，注射后能使病人过敏，发生休克。针剂中的"热源"就是这类多糖物质。

细菌的荚膜是一种多糖，多糖结构不同的荚膜具有不同的抗原性。细菌的细胞壁是由多糖与多肽结合的胞壁质，它使细菌具有一定的机械强度和形状，并且在低渗溶液中不会涨破。一些酵母、真菌内的多糖，例如多聚甘露糖、香菇多糖是有希望用作治疗的药物。

在节肢动物中，虾、蟹和昆虫的甲壳，是一种称为几丁质的壳多糖。据认为几丁质能够耐化学药物和辐射的影响，大量废弃的甲壳和蚕蛹都可综合利用提取几丁质。

高等动物中的多糖，有各自的功能。存在于肝脏、肌肉中的糖元，是一些分子量很高的多糖。最大的分子由几十万个葡萄糖基所组成，但仍能溶解成水溶液，当机体需要时，糖元分解出葡萄糖，当机体中游离葡萄糖过剩时，就聚成糖元储藏起来，反映了机体对糖的利用和调节有很精巧的安排。由糖醛酸和氨基糖组成的粘多糖，或游离存在，或与蛋白质结合在一起。存在于胸膜液、滑液、皮肤、脐带、眼球玻璃体中的透明质酸和粘液素是细胞粘合剂，组织间的润滑剂，它们在机体中的主要功能是阻滞微生物侵袭。

分布在肺部、肠粘膜等组织中的一种多糖——肝素，对血液有抗凝作用，而正常血液中由于没有肝素而不妨碍正常的凝血功能。静脉注射肝素能防止脉管炎起因的血栓形成，它还有消除高血脂的功能。

人体软骨的有机物主要是软骨素等多糖，随年龄增加，多糖中的硫酸角质的比例变大。脊柱软骨增生，是一种发生于壮年和老年期的慢性病，压迫颈椎、腰椎等神经丛或造成神经损伤，引起外周神经炎，肌肉产生麻木、疼痛或出现萎缩症状。由于软骨中多糖与胶原蛋白结合在一起，因此可以注射胶原蛋白酶来消除新形成的增生软骨。

糖与蛋白结合所成的糖蛋白，如主动脉蛋白、肾脏基底膜蛋白、眼球晶体囊蛋白是一些组织器官的结构物质，它们的主要成分是蛋白质。另外糖与蛋白结合成有确定分子量和结构的糖蛋白，这种糖蛋白的糖基有的仅含一个或几个单糖基，有的含有一个或几个低聚糖基，有的含有多糖，例如颌下腺糖蛋白(绵羊)的分子中有 800 个糖基。糖蛋白可以通过水解，把糖基水解下来。糖蛋白的糖基组分常见的有半乳糖、甘露糖、乙酰氨基葡糖、乙酰氨基半乳糖、岩藻糖和唾液酸等。糖基在糖蛋白中的作用有的与活性有关，有的与抗原性有关。例如：绒毛膜促性腺激素是一个糖蛋白，当分子中的唾液酸糖基去除后，就失去激素活性；血型的特异性是与红细胞膜上的糖基有关的，A、B、O 血型有相似的糖链，差别仅在非还原端多一个单糖。非还原端单糖是 N-乙酰氨基半乳糖的细胞为 A 型；非还原端是半乳糖的细胞为 B 型；非还原端是岩藻糖的细胞为 O 型。如果改变非还原端单糖，就改变了抗原性。现在知道细胞的“识别”功能，常与膜上糖脂或糖蛋白的糖链有关，一般是蛋白质与膜上糖链之间存在互补构象关系。

自然界的多糖以不同形式存在于植物、动物和微生物中，它们除作为结构支持物质外，还具有许多生物活性，尤其是对糖蛋白组分中糖基的功能的研究，日益得到重视。

此外，天然多糖经过加工可成试剂，已在实验室中广泛应用的葡聚糖凝胶、离子交换纤维素、琼脂糖等是生化物质分离纯化、分析鉴定和制备方面的常用试剂。

二、多糖的结构

多糖的分子量很大，在形状方面，可分直链和支链两种。直链多糖的结构特点，一般用二糖结构作为重复单位，就能表达出来。支链多糖可以看成由许多直链多糖连接而成，为分枝状。多糖链还有一定的空间结构。根据糖苷链的类型而有空心螺旋、锯齿形带状等构象。例如直链多糖中，α-1, 4 葡聚糖、β-1, 3 葡聚糖具有空心螺旋，一般空心螺旋由 6～7 个单糖成一圈；β-1, 4 葡聚糖、α-1, 3 葡聚糖具有锯齿形带状构象。

1. 直链多糖

(1) 直链淀粉　是由 200～300 个葡萄糖以 α-1, 4 糖苷键相连，可用下式表示：

麦芽糖基

式中显然用不着把200～300个葡萄糖全部写出来，括号中的二糖基是一个相当于麦芽糖的基本结构单位，直链淀粉不过是这个基本结构单位的延伸。基本结构单位把分子中葡萄糖按 α-1, 4 糖苷键连接的方式表达出来了。

(2) 纤维素　也是一个直链多糖，约有上千个葡萄糖以 β-1, 4 糖苷键相连接而成：

纤维二糖基

纤维素的基本结构单位是"纤维二糖"基。纤维素分子就是几千个葡萄糖基按照纤维二糖的结构特点，通过 β-1, 4 糖苷键连接起来的。

(3) 昆布素　是由20个葡萄糖按 β-1, 3 糖苷键连接起来，它的基本结构单位是昆布二糖：

昆布二糖

2. 支链多糖

支链淀粉是一种支链多糖，分子比直链淀粉大，约由1300个葡萄糖基组成，有50个以上支链，每一个支链是由24～30个葡萄糖基，按 α-1, 4 糖苷键连接起来的。分支点，即淀粉直链上的一个葡萄糖由它的6位上羟基组成另一个糖苷键，这就接出了一个支链，因此分支点上的葡萄糖1, 4, 6位三个羟基都参加了糖苷键。

麦芽糖基　　分支点上　葡萄糖基

为了简要地表示多糖的结构，可用“葡”或“G”作为葡萄糖的符号，然后用1, 2, 3, …，表示由糖苷键所连接的两个相邻的碳位，交替用1, 2, 3…与1′, 2′, 3′…来表示，并注明α或β型：

```
        …葡1——4′葡1′——
           (α)  (α)|
                   |6
…葡1——4′葡1′——4葡1——4′葡1′——…
  (α)    (α)    (α)

        …G1——4′G1′——
           (α)  |
            (α) |
                |6
… G1——4′G1′——4G1——4′G1′——…
   (α)    (α)    (α)
```

一个直链淀粉的分子，有一个还原的尾端，而由50多个支链组成的支链多糖的大分子，也只有一个还原尾端。因为每24～30葡萄糖链的还原端的1位羟基，与分支点上葡糖基的6位羟基，结合成了糖苷键。支链淀粉的结构形状，用小圈代表葡糖基，示意如图2-3。

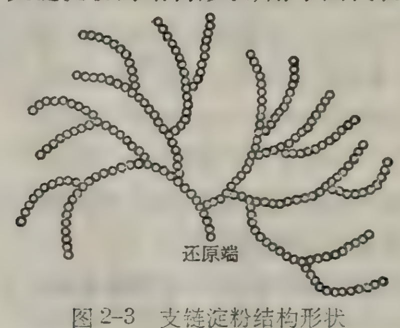


图2-3 支链淀粉结构形状

三、多糖结构的分析

1. 多糖的水解

多糖用酸水解，可以得到单糖；经过层析分离鉴定后，就能确定多糖是由哪个或哪些单糖组成的，在比较温和条件下进行部分水解，分离出低聚糖或双糖，例如淀粉部分水解，可以得到麦芽糖。把分离出的低聚糖或双糖的性质与已知的进行比较，可以知道糖苷键连接在哪一位碳上，是α型还是β型。

2. 多糖的大小和形状

(1) 聚合度　多糖常用“聚合度”表示分子的大小，聚合度的数值说明分子是由多少个单糖聚合起来的。通过分子量的测定，就可以换算出聚合度。纯粹的多糖，有与一般化合物不同的概念，即提纯的多糖仅指有相同结构特点的、分子大小不均的混合物，因此多糖的分子量或聚合度，只是平均值。

$$\text{聚合度}=\frac{\text{多糖的分子量}}{\text{单糖基的分子量}}$$

多糖的形状有直链和支链。支链多糖的形状，一般以支链的数目来表达。支链的数目是通过测定多糖尾端的数目计算出的。对于分子量已确定了的多糖，尾端数愈多，则分叉愈多。如果分子量未经测定，那末通过测出尾端数只能算出每一支链的平均聚合度。

$$\text{支链的平均聚合度}=\frac{\text{链内单糖基数}+\text{尾端单糖基数}}{\text{尾端单糖基数}}$$

(2) *尾端测定* 处于多糖尾端的单糖，比链内的单糖有较多的游离羟基，在直链内的单糖有三个羟基，在分支点上的单糖有二个羟基，而尾端的单糖有四个羟基。根据这些差别，可以测定出链内单糖数和尾端单糖数。

用碘甲烷与多糖反应，使单糖基上的游离羟基甲基化后，成为甲氧基，然后把甲基化了的多糖进行水解，可以分别得到甲基化了的单糖，例如淀粉经过这些步骤，可以得到四甲基、三甲基和二甲基的葡萄糖，通过分离定量测定，就能分别得到尾端葡糖基和链内葡糖基的数目。

(1) CH_3I (2) H_2O

四甲基葡萄糖　　二甲基葡萄糖　　三甲基葡萄糖

尾端的测定，不仅可用来计算支链的平均聚合度，同样也可用来说明多糖的支链情况和糖苷键的连接位置。

四、纯 多 糖

由一种单糖构成的多糖叫纯多糖，二种以上单糖构成的多糖叫杂多糖。

在纯多糖中，重要的是由葡萄糖构成的葡聚糖，常见的淀粉、纤维素、右旋糖酐等都是一些来源不同或糖苷键不同的葡聚糖（表 2-9）。

表 2-9 葡聚糖

名　　称	糖　苷　键
直链淀粉	$\alpha(1\to4)$
支链淀粉	$\alpha(1\to4)$ 含 5% $\alpha(1\to6)$
纤维素	$\beta(1\to4)$
右旋糖酐(直链)	$\alpha(1\to6)$
右旋糖酐(支链)	$\alpha(1\to6)$ 含 8% $\alpha(1\to3)$ $(1\to4)$
糖元	$\alpha(1\to4)$ 含 12～18% $\alpha(1\to6)$
香菇多糖	$\beta(1\to3)$
昆布素	$\beta(1\to3)$
茯苓多糖(支链)	$\beta(1\to3)$ 含 $\beta(1\to6)$

在这些葡聚糖中，淀粉、纤维素、糖元的功能前面已经提及。右旋糖酐可代血浆，使血液维持一定的渗透压，还可用来制备葡聚糖凝胶和一些右旋糖酐的衍生物。香菇多糖是一个具有对小鼠肉瘤180有抑制作用的多糖。昆布素用于治疗粥样动脉硬化。茯苓多糖当含有$\beta(1\rightarrow6)$支链时，没有抗肿瘤作用，当水解除去支链，留下直链$\beta(1\rightarrow3)$时，有抗肉瘤180的作用。这说明多糖的某些功能与结构有关系。

其他单糖如果糖、甘露糖、半乳糖、阿拉伯糖等也有相应的纯多糖存在于自然界中（表2-10）。

表2-10 纯多糖

名称	糖苷键	来源
果聚糖（菊粉）	$\beta(2\rightarrow1)$果糖	大理菊块茎，牡丹，蒲公英等
甘露聚糖（直链）	$\beta(1\rightarrow4)$甘露糖	谷类作物茎秆，兰科植物球根
甘露聚糖（支链）	$(1\rightarrow6)$含$(1\rightarrow2)(1\rightarrow3)$甘露糖	酵母
半乳聚糖（直链）	$\beta(1\rightarrow4)$半乳糖	果胶质
半乳聚糖（支链）	$\beta(1\rightarrow6)$含$(1\rightarrow3)$半乳糖	蜗牛
多聚阿拉伯糖	$(1\rightarrow5)$含$(1\rightarrow2)$阿拉伯糖	花生米，甜菜干
多聚木糖	$\beta(1\rightarrow4)$木糖	玉米芯，芦苇，麻

菊粉是28～30个果糖的聚糖，由于人体不能利用菊粉，经静脉注射进入体内以后，能够从肾排出，因此在临床上，可用来测定肾功能。酵母中的甘露聚糖，也曾作为辅助药物试用于抗肿瘤。

自然界中游离存在的单糖比较少，一般结合成多糖形式，因此实验室中制备各种单糖时，可以用相应的多糖为原料。

纯多糖中还有一些由单糖衍生物组成的多糖如甲壳质和果胶酸。由乙酰氨基葡萄糖以$\beta(1\rightarrow4)$方式连接起来的甲壳质，又称壳多糖或几丁质，是节肢动物如虾蟹和昆虫甲壳的主要成分。在甲壳中，壳多糖是与蛋白质、色素和钙盐结合在一起的。有些真菌的细胞壁的结构中也含有壳多糖。在强酸中壳多糖能溶解，浓碱能使它水化成稠粘物，但容易使乙酰水解下来，成为脱乙酰甲壳质。

果胶酸是由半乳糖醛酸以$\alpha(1\rightarrow4)$方式连接起来的一种直链多糖。果胶酸的羧基约有9%成甲酯，在弱碱性条件下，很容易水解除去而使羧基全部解离。植物中的果胶质系果胶酸的甲酯和盐，并有多聚半乳糖等的混合物，一般存在于初生细胞壁中。由于植物中细胞与细胞间层依靠果胶酸粘合起来的，所以象棉花落铃、果实的成熟和贮藏便与果胶酸有关。水果中含有丰富的果胶质，只要有0.2%的果胶酸加入到饱和的蔗糖溶液中，便能凝结成果浆。

五、杂 多 糖

杂多糖的几种单糖组分中，常含有糖醛酸。例如动物结缔组织的透明质酸，植物的半纤维素、树胶，都含有糖醛酸的组分。此外，还有仅由两种以上单糖组成的，例如琼脂糖等多糖。

1. 动物粘多糖

粘多糖常以一定方式与蛋白相连。透明质酸是一条长的糖链，糖链两侧连接一系列蛋

白肽链，这些肽链上的丝氨酸又通过“木-半乳-半乳”三糖与别的多糖链结合，这样的大分子在水的解质中就成为一个具有弹性的凝胶状网络，细胞就在网络中。由粘膜分泌的粘蛋白，它的糖链多而短，粘液素带有负电荷，水合度大，水溶液具有很高的粘度。机体利用它们在上呼吸道中捕获空气中的细菌，防止消化液中有害物质对胃壁的作用等。其他粘多糖尚有肝素、软骨素。其中透明质酸、粘液素和肝素都有葡糖醛酸和氨基葡萄糖的组成。

(1) 透明质酸　最初在眼球内的玻璃体中发现，也存在于角膜、脐带中。有些细菌，因含有透明质酸酶，因能分解透明质酸而侵入机体。蜂毒、蛇毒和恶性肿瘤中，也含有透明质酸酶，因而能损害人体。透明质酸酶又是一个药物，利用它能水解透明质酸的功能，使药物容易扩散至病变部位。透明质酸具有 β-葡糖醛酸 (1→3) β-乙酰氨基葡糖 (1→4) 的结构重复单位：

透明质酸

(2) 粘液素　是一种粘度很大的粘多糖，存在于机体与外界接触的粘膜部分。从胃粘膜提取出来的胃粘膜素是粘液素的制剂，对溃疡性胃组织有保护作用。粘液素与透明质酸结构的差别是乙酰氨基葡糖成 6-硫酸酯，具有 β-葡糖醛酸 (1→3) β-乙酰氨基葡糖 6-硫酸酯 (1→4) 的结构重复单位：

硫酸粘液素

(3) 肝素　是一种含有硫酸酯的粘多糖，为动物体内的一种天然抗凝血物质。肝素最早在肝脏中发现，同时也存在于肺、肌肉、血管壁、肠粘膜等组织中，但正常血液中几乎没有。临床上肝素用作血液体外循环时的抗凝血剂，也用于防止脉管中血栓形成。肝素能够使细胞膜上的脂蛋白脂酶释放进入血浆，由于该脂酶使极低密度脂蛋白所携带的脂肪水解成脂肪酸和甘油，因而外源肝素可以用来降低血脂。此外，对化脓杆菌有抗菌性能。

肝素属于不均一的多糖分子，分子量平均值为 17,000。它的组分是氨基葡萄糖和二种糖醛酸，其中以艾杜糖醛酸为主，其次是葡糖醛酸。分子结构可用一个四糖重复单位表示，氨基葡糖苷是 α 型的，糖醛酸糖苷是 β 型的。肝素的含硫量在 9～12.9% 之间，硫酸基连接在氨基葡糖的 2 位氨基和 6 位羟基，分别成磺酰胺和酯。艾杜糖醛酸的 2 位羟基成硫酸酯。在体内，硫酸基成负离子状态。肝素重复单位的结构如下：

肝素

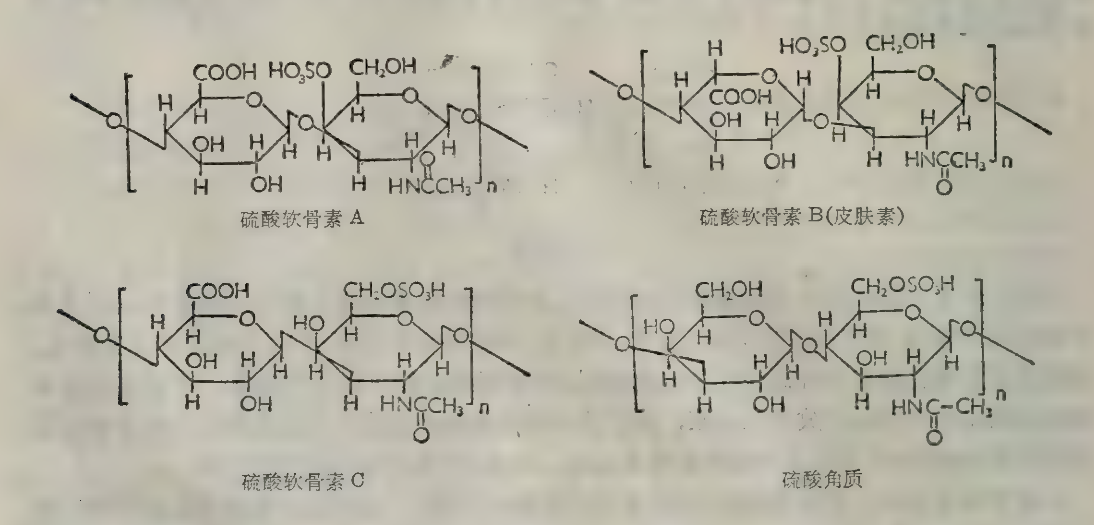
肝素的某些活性似与硫酸基有关。因此由葡聚糖合成的硫酸酯或由多聚半乳糖醛酸甲酯合成的硫酸酯都具有延缓凝血的作用。

(4) *硫酸软骨素和硫酸角质*　软骨素由葡糖醛酸和半乳糖所组成。软骨和肋骨中的软骨素有硫酸软骨素 A 和 C 两种，它们与胶原蛋白结合在一起。从皮肤和腱分离得到的硫酸软骨素 B 又叫硫酸皮肤素，是由 L-艾杜糖醛酸和氨基半乳糖胺组成。此外还有一种硫酸角质，它们在单糖组成方面的区别见表 2-11。

表 2-11　硫酸软骨素和硫酸角质单糖组成的区别

多　　糖	单　　糖　　组　　成
硫酸软骨素 A	D-葡糖醛酸，乙酰氨基半乳糖-4-硫酸酯
硫酸软骨素 C	D-葡糖醛酸，乙酰氨基半乳糖-6-硫酸酯
硫酸软骨素 B	L-艾杜糖醛酸，乙酰氨基半乳糖-4-硫酸酯
硫 酸 角 质	D-半乳糖，乙酰氨基葡糖-6-硫酸酯

在婴儿的软骨和肋骨中几乎不含硫酸角质，随着年龄的增加，硫酸角质含量也增加，当年龄在 20～30 岁后硫酸角质的含量就稳定下来，占软骨、肋骨的粘多糖总量的 50%。人体脊椎骨间的中央部分软骨中硫酸角质的含量也有随着年龄增长而增多的情况。一些能够催化硫酸软骨素分解的酶不能分解硫酸角质。这些粘多糖的结构式如下：



硫酸软骨素 A　　硫酸软骨素 B(皮肤素)

硫酸软骨素 C　　硫酸角质

2. 植物杂多糖

在植物中除纤维素外，半纤维素也是普遍存在的一个杂多糖，它们具有溶于碱液和易被酸水解的性质，在纸浆中，除纤维素外，也还有半纤维素。不同来源的半纤维素的单糖成分有不同，从水解产物来看，主要是木糖、阿拉伯糖、甘露糖、半乳糖和糖醛酸。下面是小麦麦秸的半纤维素部分结构：

```
—4'木1'—4木1—4'木1'—4木1—4'木4'—
   3     3'      3
   |     |       |
   1'    1       1'
   木   葡醛酸   阿
```

小麦麦秸的半纤维素

树胶也是一些杂多糖。下面是树胶的部分结构：

```
——半乳1—3'半乳1'—6半乳1—3'半乳1'—6半乳1—3'半乳1—
          6'|              6'|                6'|
         1半乳            1半乳              1半乳
          6'|               6|                 6|
          1'|              1'|                1'|
          醛酸              醛酸                醛酸
```

树胶

琼脂是由D–半乳糖和3，6失水L–半乳糖组成的；海藻糖由70% D–甘露糖醛酸、30% D–古洛糖醛酸组成。

3．微生物杂多糖

微生物中，细菌荚膜是具有免疫活性的杂多糖，细菌细胞壁的主要成分胞壁质(murein)是由杂多糖与多肽组成的糖蛋白。

(1) *免疫活性多糖*　细菌的抗原活性是由细胞壁表层的多糖物质决定的。从肺炎球菌可分离出荚膜多糖。由于不同菌株的荚膜多糖结构不同，因而有不同的免疫活性。下面是荚膜的III型多糖和VIII型多糖的结构：

$$\left[{}^{3}\text{葡糖醛酸}\frac{1\quad 4'}{(\beta)}\text{葡}^{1'}\right]_n \qquad \text{III型多糖}$$

$$\left[\frac{4}{(\alpha)}\text{葡糖醛酸}\frac{1\quad 4'}{(\beta)}\text{葡}\frac{1'\quad 4}{(\beta)}\text{葡}\frac{1\quad 4'}{(\alpha)}\text{半乳}^{1'}\right]_n \qquad \text{VIII型多糖}$$

从一些对人体的肺、气管、口腔粘膜、皮肤、淋巴、脑、内脏有致病作用的十六属病原性真菌中分离出来的免疫多糖，绝大多数含有半乳糖、甘露糖，有的真菌多糖还含有葡萄糖、岩藻糖、鼠李糖和木糖。同属不同种的真菌一般有相同的单糖组成，例如对肺和支气管致病的五种青霉菌(*P. charlesii, P. expansum, P. frequentans, P. notatum, P. chrysogenum*)都是由半乳糖和甘露糖构成的多糖。青霉菌(*P. charlesii*)的半乳甘露聚糖的结构如下：

半乳–(1→5)–[半乳–(1→5)–半乳]ₙ–半乳–(1→3)–半乳–(1→3)–半乳–[甘露–(1→2 和 →3)–甘露]ₙ–甘露

对肺致病的新生隐球酵母(*Cryhtococcus neoformans*)的葡木甘露聚糖的结构如下：

```
——2甘露1—2'甘露1'—2甘露1—2'甘露1'——
    4|       4'|      4|       4'|
    1'|       1|      1'|       1|
    木      甘露      木      甘露
             4'|               4|
             1'|              1'|
             葡                葡
```

(2) *胞壁质*　胞壁质是一种糖蛋白，它的多糖链是由乙酰胞壁(糖)酸以 $\beta(1\rightarrow4)$ 键与乙酰氨基脱氧葡糖相连，而后者又以 $\beta(1\rightarrow4)$ 键与前者连接，它的结构重复单位如下：

(结构式：CH_2OH、H、OH、$HNC(=O)-CH_3$、$NHC(=O)-CH_3$、$CH_3CH-COOH$；重复单位 $[\ \ ]_n$)

β–乙酰氨基葡糖–1，4–乙酰胞壁糖酸

每一个二糖单位(用-G-M-符号表示)与一个由丙、谷、赖、丙四个氨基酸组成的四肽相连，相邻多糖链上的四肽再通过由五个甘氨酸组成的甘五肽进一步连接形成糖肽链：

```
         —G—M—                         —G—M—
            L-Ala                         L-Ala  ┐
         γ-D-Glu                       γ-D-Glu   │ 四肽
            L-Lys                   —Gly-L-Lys   │
            L-Ala-Gly-Gly-Gly-Gly-Gly   L-Ala   ┘
                  └──────甘五肽──────┘
```

G：乙酰氨基葡萄糖　M：乙酰胞壁糖酸　Ala：丙氨酸

Glu：谷氨酸　Lys：赖氨酸　Gly：甘氨酸

胞壁质的结构是由许多多糖链通过上述多肽串连成结构连续的糖蛋白，胞壁质又通过磷酸与磷壁(酸)质联结起来(图 2-4)。

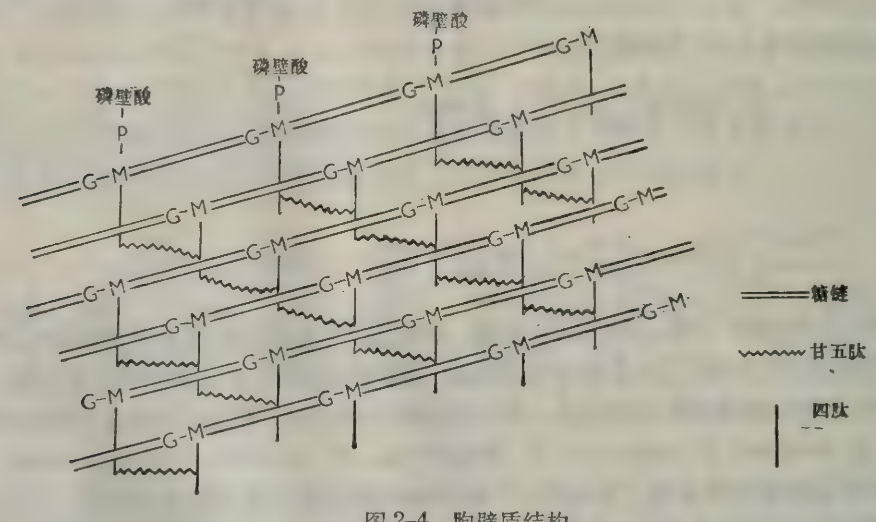


图 2-4　胞壁质结构

(3) 磷壁(酸)质　革兰氏阳性菌的细胞壁的另一个多糖是含有磷酸组分的磷壁(酸)质。磷壁质是由葡萄糖和核糖醇或甘油组成。有核糖醇型和甘油型。核糖醇与磷酸间隔相联成磷酸糖醇的链，再由链中核糖醇的一个羟基与葡萄糖以糖苷键相连，另一个羟基与丙氨酸结合成酯。甘油型链中甘油只留下一个羟基，因此一个甘油与葡萄糖形成糖苷，而相邻的另一个甘油与丙氨酸结合成酯。它们的结构如下：

核糖醇基

$$\left[-\overset{O}{\underset{OH}{\overset{\|}{P}}}-OCH_2-\underset{O-\text{葡萄糖}}{CH}-\underset{O}{CH}-\underset{O-C(=O)-CH(NH_2)-CH_3}{CH}-CH_2-O-\right]_n$$

磷壁(酸)质-核糖醇型

磷壁(酸)质-甘油型

(4) *细胞壁* 细菌细胞壁的主要作用是维持细菌体内能够比环境中浓度高数百倍的可溶物质，因而使细菌细胞内的渗透压变得相当高，例如金黄色葡萄菌的内渗透压为20～25个大气压，大肠杆菌为3～5个大气压。细胞壁还可使细菌保持各自的形态。

革兰氏阳性菌的细胞壁主要是由胞壁质和磷壁质组成的，革兰氏阴性菌的细胞壁较复杂，除含有低于10%的胞壁质外，尚有脂多糖以及磷脂和脂蛋白。脂多糖是由三个部分组成：O抗原糖侧链，核心多糖和脂质A。O抗原糖侧链多数是由 $\{$甘露-鼠李-半乳$\}_n$ 三糖为重复单位，此三糖还可接上其他一些单糖如阿比可糖、泰威糖、蛔糖或可立糖，都是一些3，6-二脱氧己糖。脂质部分与核心多糖相连，脂质A是1→6葡糖胺二聚物，它的氨基被3-羟基豆蔻酸所取代，三个羟基上连接长链脂肪酸，尚有一个羟基与核心多糖相连。革兰氏阴性菌所带的O抗原就是脂多糖。不同的革兰氏阴性菌还具有不同抗原性，是O抗原侧链上单糖有一些差别。

胞壁质能被胞壁质酶水解。另外，胞壁质的多糖链虽是一个杂多糖，其中胞壁酸是一个氨基葡萄糖的衍生物，因此与多聚乙酰氨基葡萄糖即壳多糖相似，这二种多糖又都是β-糖苷键，所以胞壁质的多糖链能够被水解壳多糖的溶菌酶所水解。由此可知溶菌酶和胞壁质酶都能破坏革兰氏阳性菌的细胞壁而具有杀菌能力。如果用上述酶把细菌的细胞壁去掉成为无细胞壁的裸细胞，仍可在合适溶液中培养，应用于有关的实验。

六、几种层析用试剂的多糖

纤维素、葡萄糖、琼脂糖、淀粉可作生化分析和纯化的试剂。

1. 纤维素

纤维素主要是棉纱、粘胶纤维(人造棉、人造丝)、纸张、硝酸纤维的原料，由于纤维素的亲水性质，以及对不同化合物亲和力的差别，可用于作层析的载体。把纤维素接上离子基团后可以制成离子交换剂。

(1) *羧甲基纤维素* 纤维素与氯乙酸作用生成羧甲基纤维素(C. M. C.)：

$$纤—OH + NaOH \longrightarrow 纤—ONa$$

$$纤—ONa + ClCH_2COOH \longrightarrow \underset{(C.\ M.\ C.)}{纤—OCH_2COOH} + NaCl$$

羧甲基纤维素在水中有粘性，是一种化学浆糊。它可代替淀粉质浆糊，用于纺织品上浆。把纤维素用甲醛交联则成阳离子交换剂。

(2) *二乙胺乙基纤维素(DEAE-纤维素)* 纤维素与N-二乙基2-氯乙胺作用成二乙胺乙基纤维素：

$$纤—ONa + ClCH_2—CH_2N(C_2H_5)_2 \longrightarrow 纤—OCH_2—CH_2N(C_2H_5)_2$$

二乙胺乙基纤维素(DEAE-纤维素)是一个阴离子交换剂,常用于生化分析。

2. 葡聚糖

(1) *葡聚糖* 是由微生物发酵产生的,是 $\alpha(1\to6)$ 键的线形多聚葡萄糖,葡聚糖在药物上,称右旋葡萄酐,可代血浆用。

(2) *葡聚糖凝胶* 由线形葡聚糖与环氧化氯丙烷反应,生成交链葡聚糖:

$$(葡\ n)—OH + \underset{\diagdown O \diagup}{CH_2—CH}—CH_2Cl \xrightarrow{OH^-} (葡\ n)—OCH_2\underset{OH}{\underset{|}{CH}}—CH_2Cl \xrightarrow{NaOH} (葡\ n)—OCH_2—\underset{\diagdown O \diagup}{CH—CH_2}$$

$$\xrightarrow{(葡\ n)—OH} (葡\ n)—OCH_2\underset{OH}{\underset{|}{CH}}—CH_2O—(葡\ n)$$

葡 n: 线形葡聚糖。

交链葡聚糖与水成凝胶,故也叫葡聚糖凝胶,整个分子由稳定的醚桥键形成立体网状结构。控制交链剂的浓度,可以制成一定大小的网络结构,葡聚糖凝胶的胶过滤技术,用于分离大小不同的生物大分子。它的原理是:溶液通过凝胶时,较大的分子不能进入网络,因此比较快地流出,而进入网络结构的分子无数次进进出出,流动时所受阻力较大,故流出较慢。由于二者的速度相差很大,二种大小不同的分子得到分离。据此,凝胶过滤还可用于测定大分子化合物的分子量,大分子溶液的脱盐和浓缩作用。

(3) *葡聚糖亚氨代碳酸化物* 葡聚糖可应用于"亲和层析"。亲和层析是利用配基化合物和相对应的生物大分子之间具有专一的可解离的络合特性,而发展起来的一种分离提纯生物大分子的新手段。将配基连接在葡聚糖凝胶上作成层析柱,对纯化大分子的生化物质有很好的效果。连接配基化合物到葡聚糖的方法可通过葡聚糖用溴化氰活化成亚氨代碳酸化物,然后在比较温和的弱碱条件下,接上含有氨基的配基化合物,成葡聚糖的异脲衍生物和尿基甲酸衍生物。

$$葡聚糖\begin{cases}—OH\\—OH\end{cases} \xrightarrow[(活化)]{CNBr} 葡聚糖\begin{cases}—O\\—O\end{cases}\!\!\!>C=NH$$

亚氨代碳酸化物

$$\xrightarrow[弱\quad碱]{NH_2—配基化物} 葡聚糖\begin{cases}—O—\underset{NH}{\underset{\|}{C}}—NH—配基化物\\—OH\end{cases} + 葡聚糖\begin{cases}—O—\underset{O}{\underset{\|}{C}}—NH—配基化物\\—OH\end{cases}$$

异脲衍生物　　　　氨基甲酸衍生物

3. 琼脂糖

琼脂是一个海藻多糖,琼脂水解物的组成,据分析有 40% D-半乳糖,40% 3,6-失水 L-半乳糖,3% 硫酸酯和 2% 丙酮酸。琼脂实际上是琼脂胶和琼脂糖二种成分的混合物。琼脂糖的结构重复单位如下:

(β)　(β)

D-半乳糖　3,6-失水 L-半乳糖　D-半乳糖　3,6-失水 L-半乳糖

琼脂四糖

琼脂的1～2% 水溶液，冷却后就成凝胶，是微生物培养基的常用介质，由于琼脂凝胶是透明的，所以也用作免疫扩散和血清免疫电泳的介质。早期也曾试用琼脂作"胶过滤"试验，但没有成功。原因是琼脂中的琼脂胶是一个琼脂糖的硫酸酯，硫酸酯解离后产生电荷，有相当强的吸附作用。因此不适用作胶过滤。以后从琼脂中分离除去琼脂胶，得到琼脂糖。在生化分析纯化中琼脂糖是用于胶过滤的很好材料。

琼脂糖不需化学交链，主要依靠糖基之间的氢键的引力，形成网状结构，因此琼脂糖凝胶的稳定性比葡聚糖凝胶差一些。

4. 淀粉凝胶

经过部分水解的淀粉，也能制备凝胶，用于凝胶电泳。由于具有网状结构，大小不同的大分子，电泳时受到阻力不同，能提高分离的效果，但淀粉凝胶的机械强度较差。

第三章　脂质类化学

第一节　脂质类的一般概念

广泛存在于生物体中的脂肪以及类似脂肪的和能够被有机溶剂抽提出来的化合物，统称脂质类化合物。脂质类是结构不同的几类化合物，但它们的分子中碳氢比例都较高，所以能够溶解在乙醚、氯仿、苯等普通有机溶剂中。脂质能溶于有机溶剂而不溶于水的这种性质，称为脂溶性。生物体中的许多脂质化合物，由于脂溶性，能够一起被有机溶剂提取出来，实际上，在生物体内的许多脂质化合物，也往往是互溶在一起的。根据化合物具有脂溶性这个共同特点归为一大类，称为脂质类。但这不是一个准确的化学名词。通过对脂质类的代谢途径研究，发觉这些化合物之间恰好有着非常密切的联系，因此在生物化学中，脂质类作为一个适宜的类名沿用下来。

根据脂质类化学结构和组成，可分为单纯脂质、复合脂质和异戊二烯系的脂质。

(1) 单纯脂质

1) 脂肪：脂肪酸的中性甘油酯。

2) 蜡。

(2) 复合脂质

1) 磷脂：甘油磷脂和神经鞘磷脂。

2) 糖苷脂：脂肪酸与鞘氨醇糖苷所成的酯。

(3) 异戊二烯系的脂质

1) 多萜类的类胡萝卜素等。

2) 固醇和类固醇。

脂质类是一些有重要生理功能的化合物。脂肪提供机体需要的能量和防止热量发散；磷脂是细胞膜的重要组分；其他脂质，有的是动物的激素和维生素，有的是动植物的色素物质。

第二节　脂肪和脂肪酸

一、脂　　肪

1. 脂肪的结构和组成

脂肪是脂肪酸的甘油三元酯，称三酸甘油酯或甘油三酯。脂肪中的三个脂肪酸，可以是相同的，例如三硬脂酸甘油酯，但天然脂肪，大多数是混酸甘油酯。当组成脂肪的三个脂肪酸不相同时，便具有不对称结构而存在异构体。中间的羟基所成的酯在左面的为L-型，碳数从上而下定为1，2，3。脂肪的化学结构通式如下：

$$
\begin{array}{l}
CH_2OH \\
| \\
CHOH \\
| \\
CH_2OH
\end{array}
\qquad
\begin{array}{ll}
CH_2OC(=O)-R & (1) \\
R'-CO(=O)-CH & (2) \\
CH_2OC(=O)-R'' & (3)
\end{array}
$$

甘油　　　　脂肪(三酸甘油酯)

式中 R、R′、R″ 表示三种不同的脂肪酸。脂肪分子 1, 2, 3 位上不同的脂肪酸，可以通过下面步骤测定出来：

(i) 2-[1,3 —胰脂肪酶→ 2-| + 2-|3 + 2-| + 1,3(脂肪酸)

(ii) 2-|1 + 2-|3 + C_6H_5—O—P(=O)(Cl)—Cl —假磷脂酶→ 2-[1, 3-O—P(=O)(Cl)—C_6H_5] + 2-[1-O—P(=O)(Cl)—C_6H_5, 3]

L-假磷脂　　　　D-假磷脂

(iii) 2-[1, 3-O—P(=O)(Cl)—C_6H_5] + 2-[1-O—P(=O)(Cl)—C_6H_5, 3] —磷脂酶→ —[1, 3-O—P(=O)(Cl)—C_6H_5] + 2(脂肪酸) + 2-[1-O—P(=O)(Cl)—C_6H_5, 3]

上面的反应式中，甘油碳架用直线表示，脂肪酸用横线表示，1, 2, 3 分别表示不同位上的不同脂肪酰，2-[$^1_3$ 表示脂肪分子。在(iii)式中 L-型的假磷脂能被磷脂酶水解，游离出 2 位的脂肪酸和 1-脂酰-3-磷酰甘油。这样 2 位的脂肪酸就可测出。在分离出 1-脂酰-3-磷酰甘油后，1 位上的脂肪酸可进一步水解测出。3 位脂肪酸可以从脂肪酸全分析中得出。

植物油和动物脂都是脂肪。大多数植物油如豆油、花生油等脂肪中不饱和脂肪酸含量超过 70%，具有较低的凝固点(或熔点)，在常温时为液体，故统称为油。动物油脂如猪油、羊油中，不饱和脂肪酸含量低，凝固点比较高，在常温时为固体，一般称为脂。不同的油脂由于脂肪酸组成的差别除引起口味上不同外，从营养角度上还与不饱和脂肪酸的成分和含量有关。脂肪中的不饱和脂肪酸如亚油酸、γ-亚麻酸和廿碳四烯酸是某些哺乳动物必须从外界取得的营养物质。植物油中的不饱和脂肪酸的含量比动物油脂的要高，因此在营养价值上比动物油脂重要。膳食中过多的油脂对人体未必有益，例如高血脂患者，膳食中须对动物油脂适当加以限制。如果补充不饱和脂肪酸则有降低血脂的作用。分析天然油脂的脂肪酸组成，可供营养参考。脂肪中的重要脂肪酸主要是十六碳和十八碳的饱和或不饱和脂肪酸，

因此除脂肪全分析外，通常只要指出不饱和脂肪酸的含量已可说明油脂的营养质量。在生物体内，能够催化脂肪水解释放出脂肪酸的不同的酶，在脂肪分子上的作用位置是不同的，因此可用于脂肪结构分析。另外又由于饱和和不饱和脂肪酸的营养价值差别，所以可以把脂肪结构分成几种类型以示区别。按照全部为饱和酸，全部为不饱和脂肪酸，二个饱和一个不饱和脂肪酸，二个不饱和一个饱和脂肪酸，分别用 GS_3、GU_3、GS_2U、GSU_2 来表示。其中 GSU_2，GS_2U 还可以进一步分成 SUU 和 USU，SSU，SUS 四种异构体(表 3-1)。

表 3-1　天然脂肪的异构体和类型　(%)

	GS_3	GS_2U	GSU_2	GU_3
猪　油	2.5	22.4	55.7	19.4
花生油	0.1	9.9	42.5	47.5
牛　油	12.6	43.7	35.5	8.4
可可油	7.1	67.5	23.3	2.1
豆　油	0	3.7	31.0	65.3

G：甘油基；S：饱和脂酰；U：不饱和脂酰。例 GSU_2 是一个饱和脂肪酸和二个不饱和酸组成的三酸甘油酯。

	SUS	SSU	USU	UUS
猪　油	1.0	21.4	46.9	8.8
花生油	9.3	0.6	0.7	41.8
牛　油	30.6	13.1	3.4	31.9
可可油	65.0	2.5	0.2	23.1
豆　油	0	3.7	31.0	65.3

SUS：按符号次序表示，1 位和 3 位是饱和脂肪酸，2 位是不饱和脂肪酸。

如果把脂肪酸的空间位置全部测定出来，便可列出主要脂肪酸在油脂的脂肪分子 1，2，3 位上的分布表(表 3-2)。

表 3-2　某些油脂中脂肪酸的空间分布

油　脂	位　置	16:0	16:1	18:0	18:1	18:2	18:3
花生油	1	13.8		5.9	22.9	49.4	9.1
	2	0.9		0.3	21.5	69.7	7.1
	3	13.1		5.6	28.0	45.2	8.4
玉米油	1	18.5	0.4	3.5	28.1	48.5	1.0
	2	1.8	0.1	0.2	25.8	71.2	0.9
	3	12.6	0.5	2.2	31.0	52.6	1.1

16，18：表示脂肪酸的碳数。
:0，:1：数字表示双键数目。

油脂含不饱和脂肪酸的多少，一般可以用碘值、饱和度、油酸、亚油酸的数值来表示(表 3-3)。

不同种类的油脂所含的脂肪酸是不相同的。至于同一种的油脂由于动植物的品种不同或生长等情况不同也有差别。因此表中所列的数值并不是常数。

油脂中除十六碳以上的脂肪酸外，尚有低碳的脂肪酸成分，表 3-4 是几种油脂的全分析，低于十四碳等脂肪酸含量列入其他项中。

表 3-3　天然油脂成分的主要指标

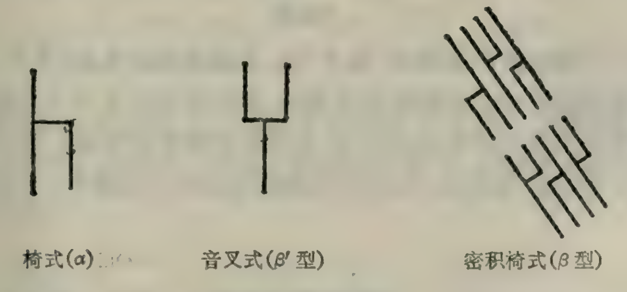
	碘　　值	饱和度 %	油　酸 %	亚油酸 %
猪　油	66.5	37.7	49.4	12.3
花生油	93.0	17.7	56.5	25.8
向日葵油	144.3	5.7	21.7	72.6
豆　油	135.8	14.0	22.9	55.2
棉籽油	105.8	26.7	25.7	47.5
玉米油	126.8	8.8	35.5	55.7
可可油	36.6	60.1	37.0	2.9

表 3-4　几种油脂的主要脂肪酸组成(%)

油　　脂	奶　　油	羊　　油	麻　　油
月桂酸 C_{12}	2.5		
豆蔻酸 C_{14}	11.1	4.6	
棕榈酸 C_{16}	29.0	24.6	9.1
硬脂酸 C_{18}	9.2	30.5	4.3
花生酸 C_{20}	2.4		0.8
其他饱和酸	4.8		
棕榈油酸 C_{16}	4.6		
油　酸 C_{18}	26.7	36.0	45.4
亚油酸 C_{18}	3.6	4.3	40.4
其他不饱和酸	6.1		

2. 脂肪的构象

甘油三硬脂酸是多晶型的，在不同的结晶条件下可以得到 α, β, β' 三种晶体，它们的熔点也是不同的 (53°C, 64.2°C, 71.7°C)。不同晶型的甘油三硬脂酸是由二种构象不同的分子排列起来的，一种是音叉式，另一种是椅式。



椅式(α)　　音叉式(β'型)　　密积椅式(β型)

油酸二饱和酸甘油酯一般按照下面的形式排列：



1, 3-二饱和酸-2-油酸甘油酯

3. 脂肪在工业中的应用

在制药工业中，植物油作为溶剂。化学合成的维生素 A 和 D 用植物油配成鱼肝油剂型，麻油是油剂针药的溶剂，这些药用植物油需要经过精制。

传统上，动植物的脂肪是肥皂的原料。在碱性溶液中，脂肪被水解成脂肪酸的盐和甘油，脂肪酸的钠或钾盐称肥皂，脂肪在碱溶液中水解称为“皂化作用”。

$$\underset{\text{脂肪}}{\begin{array}{l} \quad\quad\quad\ \ CH_2OCOR \\ R-COOCH \\ \quad\quad\quad\ \ CH_2OCOR \end{array}} + 3NaOH \longrightarrow \underset{\text{脂肪酸钠}}{3R-COONa} + \underset{\text{甘油}}{\begin{array}{l} CH_2OH \\ CHOH \\ CH_2OH \end{array}}$$

脂肪酸的钠盐和钾盐能溶解于水。脂肪酸钾如油酸钾在水中溶解后，成透明溶液。一般日用肥皂是钠盐，在水中成胶体。钾、钠皂都有去垢作用。由于肥皂是表面活性物质，能够在水溶液中产生泡沫，而未经皂化的油脂正好相反，能够消除泡沫，在发酵工业中，油脂是消泡剂。

二、脂 肪 酸

脂肪水解可以得到脂肪酸。脂质类如磷脂、糖苷脂的分子组分中都含有脂肪酸。低于十四碳的饱和脂肪酸主要存在于奶油中，其中有丁酸 3.6%，已酸 2.0%，辛酸 0.5%，癸酸 2.3%，月桂酸 2.5%。天然的脂肪酸基本上是偶碳数，它们的一些常数见表 3-5。

1. 饱和脂肪酸

脂质中的饱和脂肪酸的组分主要是十六烷酸（也叫棕榈酸或软脂酸）、十八烷酸（也叫硬脂酸），其他还有二十碳的花生酸等，它们都是直链的羧酸，通式是 RCOOH。以软脂酸为例，可以用一条锯齿形的碳氢链来表示它们的构型：

$$H_3C-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-COOH$$

棕榈酸

脂肪酸分子中，非极性的碳氢链是“疏水”的，极性基团羧基是“亲水”的。长碳链的脂肪酸，由于疏水的碳氢链占有分子体积的绝大部分，因此就决定了分子的脂溶性。在水中不溶解的脂肪酸，由于分子中存在极性基团羧基，所以仍能被水所润湿。为了表达碳氢链在分子中的疏水亲脂性质，在结构简式上，常用折线条把碳氢链表达出来，下面是硬脂酸的结构简式：

$$\wedge\!\!\wedge\!\!\wedge\!\!\wedge\!\!\wedge\!\!\wedge\!\!\wedge\!\!\wedge\!\!\diagup COOH$$

硬脂酸（十八碳烷酸）

2. 不饱和脂肪酸

脂质中的不饱和脂肪酸组分以十八碳烯酸为主，有一个双键的称为油酸，有二个双键的称为亚油酸，有三个双键的称为亚麻酸。这三个十八碳烯酸的第一个双键都在 9 位和 10 位碳间，即分子的中间部位。天然的十八碳烯酸，都是顺式结构。

$$\overset{18}{H_3C}-\overset{17}{CH_2}-\overset{16}{CH_2}-\overset{15}{CH_2}-\overset{14}{CH_2}-\overset{13}{CH_2}-\overset{12}{CH_2}-\overset{11}{CH_2}-\overset{10}{CH}=\overset{9}{CH}-\overset{8}{CH_2}-\overset{7}{CH_2}-\overset{6}{CH_2}-\overset{5}{CH_2}-\overset{4}{CH_2}-\overset{3}{CH_2}-\overset{2}{CH_2}-\overset{1}{COOH}\quad \text{油酸}$$

表 3-5　天然脂肪中的常见脂肪酸

		分子式	熔点 (°C)		沸点 (°C)
饱和脂肪酸	丁酸	C_3H_7COOH	−7.9		163.5
	己酸	$C_5H_{11}COOH$	−3.4		205.8
	辛酸	$C_7H_{15}COOH$	16.7		239.7
	癸酸	$C_9H_{19}COOH$	31.6		149
	月桂酸	$C_{11}H_{23}COOH$	44.2		176
	蔻酸	$C_{13}H_{27}COOH$	54.4		199
	棕榈酸	$C_{15}H_{31}COOH$	62.85		219
	硬脂酸	$C_{17}H_{35}COOH$	69.6		158～160
	花生酸	$C_{19}H_{39}COOH$	75.3		203～205
	山萮酸	$C_{21}H_{43}COOH$	79.9		306
	掬焦酸	$C_{23}H_{47}COOH$	84.2		
	蜂酸	$C_{29}H_{59}COOH$	91		
		分子式	双键	熔点 (°C)	碘值
不饱和脂肪酸	蔻烯酸	$C_{13}H_{25}COOH$	$\triangle^{9}$		112.2
	棕榈烯酸(鳖酸)	$C_{15}H_{29}COOH$	$\triangle^{9}$	−0.5～+0.5	99.8
	油酸	$C_{17}H_{33}COOH$	$\triangle^{9}$	13	89.9
	廿碳烯酸	$C_{19}H_{37}COOH$			
	芥酸	$C_{21}H_{41}COOH$	$\triangle^{13*}$	34.7	75.0
	神经烯酸	$C_{23}H_{45}COOH$	$\triangle^{15}$	42.5～43	69.2
	亚油酸	$C_{17}H_{31}COOH$	$\triangle^{9,12}$	−5.0	181.0
	α-亚麻酸	$C_{17}H_{29}COOH$	$\triangle^{9,12,15}$	−14.4	273.5
	γ-亚麻酸	$C_{17}H_{29}COOH$	$\triangle^{6,9,12}$		
	花生四烯酸	$C_{19}H_{31}COOH$	$\triangle^{5,8,11,14}$	−49.5	333.4
	桐油酸	$C_{17}H_{29}COOH$	$\triangle^{9,11,13}$		

△　上角数字表示双键位置，从 —COOH 端 C 开始：

COOH　亚油酸

COOH　α-亚麻酸

不饱和脂肪酸分子因含有双键，所以有顺反异构体，例如顺式油酸用亚硝酸处理后转变成反式油酸。在顺式构型中，双键旁二个碳上的氢原子在同一方向。在反式构型中，二个氢原子在双键的不同方向上：

$$H_3C-\underset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\underset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\underset{H_2}{C}-\overset{H}{C}=\underset{H}{C}-\overset{H_2}{C}=\underset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\underset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\underset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-\underset{H_2}{C}-\overset{H_2}{C}-COOH$$

反式油酸

按照双键在碳链中的位置不同，十八碳一烯酸可以有 16 个异构体。但存在于自然界并已找到的仅 $\triangle^{6}$, $\triangle^{9}$, $\triangle^{10}$, $\triangle^{11}$ 数种十八碳一烯酸的异构体。天然油酸就是一种 $\triangle^{9}$-顺-十八碳烯酸。

不饱和脂肪酸的碳序数还可采用 ω 编号系统，双键位置从碳氢链的甲基端开始命名。油酸用 (ω9-18:1) 来表示双键在 9 位的 18 碳一烯酸；亚油酸用 (ω6, 9-18:2) 来表示双键在 6 和 9 位的 18 碳二烯酸；γ-亚麻酸用 (ω6, 9, 12-18:3) 表示。

天然脂肪中尚有含四个双键的廿碳四烯酸，这个名称是因二十碳烷酸叫花生酸而称花生四烯酸，并非存在于花生油中，双键位置在5，8，11，14位上。目前从动物肾上腺提取得到的花生四烯酸可用于生产前列腺素。

COOH

花生四烯酸

3．前列腺素

前列腺素(PG)是一类含五元环的氧化廿碳酸，具有前列腺酸的碳架结构。

COOH

动物体中，很多组织都有前列腺素合成和释放，含量极微，但活性很强。近年来已知天然稳定的前列腺素已有30种以上，它们的五元环上的含氧基团和碳链上的双键数目不同。根据环上基团不同而有PGE，PGF，PGA，PGB等型。

E　　F　　A　　B

根据碳链数目，例如含有一个双键的PGE为PGE_1，含有二个和三个双键分别为PGE_2，PGE_3。同样，根据双键的数目，有$PGF_{1\alpha}$，$PGF_{2\alpha}$，$PGF_{3\alpha}$。下面是几种前列腺素的结构：

PGE_1　　$PGF_{1\alpha}$

PGE_2　　$PGF_{2\alpha}$

R=H，PGA；R=OH，19-羟PGA　　$PGF_{3\alpha}$(虚线表示方向朝纸面下边)

目前，引人重视的前列腺素中，有些已作为生化药物。PGE_2用于抗早孕和中期引产；PGE_1用于平喘和排痰作用；$PGF_{2\alpha}$用于治疗奶牛黄体病，过去奶牛患黄体病后，因不产奶就宰杀掉，现在用$PGF_{2\alpha}$治后病愈仍能产奶，故对增产牛奶很有经济价值。

三、脂肪和脂肪酸的性质

1．物理性质

脂肪不溶于水，而溶于有机溶剂，如乙醚、石油醚、氯仿、苯等，在甲醇、乙醇、丙酮中脂肪的溶解度较低。

所有脂肪酸均能溶于乙醚、氯仿、苯及热的乙醇中。分子比软脂酸小的脂肪酸，也溶于冷酒精中。由少数几个碳组成的丙酸、丁酸等则能溶于水。脂肪本身也是脂肪酸的好溶剂。

脂肪的熔点，常高于凝固点，例如三硬脂酸甘油酯，熔点为71.5°C，但在52.5°C才能凝结成固体。脂肪酸的熔点和凝固点则无差别。由于天然脂肪的脂肪酸组成并不恒定，故脂肪的熔点测定仅可用来判断脂肪酸组成的状况，例如熔点低的脂肪，不饱和脂肪酸或低分子脂肪酸的含量必较多。

2．常用的分析指标

(1) 皂化价　一克脂肪完全皂化所需氢氧化钾的毫克数称皂化价。根据皂化价的高低，可略知脂肪分子的大小。

(2) 碘价　一百克脂肪所能吸收的碘的克数，称为碘价。脂肪中的不饱和脂肪酸，它们的双键都能与碘起加成反应，成为碘化物：

$$RCH{=}CH{-}(CH_2)_n{-}COOH + I_2 \longrightarrow \underset{\displaystyle I}{\underset{|}{RCH}}{-}\underset{\displaystyle I}{\underset{|}{CH}}{-}(CH_2)_n{-}COOH$$

根据碘价的高低，可以看出脂肪酸的不饱和程度。

(3) 乙酰价　脂肪中含羟基的脂肪酸，可与乙酸酐化合变成乙酰化脂肪酸：

$$R{-}\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}COOH + (CH_3CO)_2O \longrightarrow R{-}\underset{\displaystyle OCOCH_3}{\underset{|}{CH}}COOH + CH_3COOH$$

羟基脂肪酸　　　　　　　　乙酰化脂肪酸

乙酰化脂肪酸经水解作用，放出醋酸：

$$R{-}\underset{\displaystyle OCOCH_3}{\underset{|}{CH}}{-}COOH + H_2O \longrightarrow R\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{CH}}{-}COOH + CH_3COOH$$

一克乙酰化的脂肪所放出的醋酸，用氢氧化钾中和时，所需氢氧化钾的毫克数称乙酰价。从乙酰价的高低可看出含羟基的量。

3．不皂化物

甾体化合物、脂溶维生素及类胡萝卜素等物质的溶解性质大致与脂肪相同，并都可溶于脂肪中，故常在一般脂肪中发现。但它们并不为碱所水解，故称不皂化物。

4．酸败作用

脂肪久置于潮湿空气中起化学变化而产生一种使人厌恶的臭(�)味。称为酸败作用。铜、铁等金属盐可促进酸败作用，如有光及热的影响，则酸败作用更易进行。

脂肪的酸败作用系由脂肪水解，和不饱和脂肪酸的双键氧化，产生了含有某些能破坏脂溶性维生素的过氧化物。维生素E是一种天然抗氧剂，它能保护食品和小肠组织中的其他脂溶维生素，防止它们被氧化。

四、脂肪醇和蜡

1. 脂肪醇

高级脂肪醇有游离状态的和以酯或醚的形式存在，高级脂肪醇与脂肪酸所成的酯称蜡。

抹香鲸的"脑油"中含有一种由鲸蜡醇与棕榈酸所成的酯，称为鲸脑油。游离的鲸蜡醇可在粪便中找到，是一个十六醇。

$CH_3(CH_2)_{14}CH_2OH$ 鲸蜡醇(十六醇)

$CH_3(CH_2)_{14}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-OCH_2-(CH_2)_{14}CH_3$ 鲸脑油(棕榈酸鲸蜡酯)

从鲨鱼等油中，可以分离得到脂肪醇与甘油以醚键连接的化合物。其中十八醇的甘油醚，称为鲨肝醇，是一个提高白细胞的药物。十八碳烯醇的甘油醚和十六醇所成的甘油醚，分别称鲨油醇和鲛肝醇。

$$\begin{array}{l} CH_2O(CH_2)_{15}CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} \qquad \begin{array}{l} CH_2O(CH_2)_{17}CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

鲛肝醇　　　　鲨肝醇

$$\begin{array}{l} CH_2O(CH_2)_8CH{=}CH(CH_2)_7CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

鲨油醇

2. 蜡

蜡是由高级脂肪酸与脂肪醇所成的酯，天然的蜡中往往含有一些游离的脂肪酸与脂肪醇。在常温时蜡是固体，能溶于醚、苯、三氯甲烷等有机溶剂中。蜡既不被脂肪酶所水解，也不易皂化。蜡和它的水解物中的脂肪醇，在水中都不溶解。

动植物中如昆虫、水果以及植物各器官的表面通常有一薄层的蜡存在，有防止水侵蚀与蒸发的作用。昆虫中，蜂蜡是棕榈酸与卅碳醇所成的酯；紫胶虫的蜡的成分中有 $C_{26}\sim C_{34}$ 的游离高级脂肪醇、$C_{30}\sim C_{34}$ 的游离脂肪酸以及由这些醇和酸所成的酯。植物中，有巴西蜡和棕榈蜡是由卅碳醇或廿六碳醇与棕榈酸所成的酯。

植物蜡和虫蜡也是日用化工的原料。虫蜡也可作为新鲜水果的表面涂料，使水果保持新鲜，起延长保藏时间的作用。

第三节　磷　　脂

一、磷脂的结构

1. 甘油磷脂类

磷脂有甘油磷脂和神经鞘磷脂，它们都是含有磷酸组分的脂质。甘油磷脂主要指磷脂酸

的衍生物。甘油磷脂中常见的是卵磷脂和脑磷脂。动物的心、脑、肾、肝、骨髓以及禽蛋的卵黄中，这二种磷脂的含量都很丰富。大豆磷脂则是卵磷脂、脑磷脂、心磷脂等混合物。

甘油磷脂有二种类型。一类是 L-磷脂酸的衍生物，另一类是缩醛磷脂。这里对缩醛磷脂单独作一叙述。

磷脂酸是最简单的甘油磷脂，它的结构是 1,2-二酸甘油的磷酸酯。

$$
\begin{array}{ll}
H_2CO{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}R & (1)\\
R'\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH & (2)\\
H_2COH & (3)
\end{array}
\qquad\qquad
\begin{array}{ll}
R\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH_2 & (1)\\
R'\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH & (2)\\
H_2CO{-}\overset{\overset{O}{\|}}{P}(OH){-}OH & (3)
\end{array}
$$

二酸甘油　　　　L-α-磷脂酸

磷脂酸是 L 型的，磷酸与羟基所成的磷酸酯是在 3 位上。2 位上的脂肪酰基和 3 位上的磷酰基是两个方向上的。

一般的磷脂是指磷脂酸与另一个羟基化物所成的磷脂酰化物。卵磷脂就是磷脂酰胆碱，脑磷脂是磷脂酰胆胺，丝氨酸磷脂也称磷脂酰丝氨酸。

胆碱、胆胺(氨基乙醇)、丝氨酸都是含有羟基和氨基的化合物，以它们的羟基与磷脂酸中的磷酸基连接成酯。它们的结构和相应的磷脂结构如下：

$$
HO{-}CH_2{-}CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3OH^-
\qquad\qquad
\begin{array}{l}
R\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH_2\\
R'\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH\\
H_2CO{-}\overset{\overset{O}{\|}}{P}(O^-){-}OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3
\end{array}
$$

胆碱　　　　卵磷脂(磷脂酰胆碱)

$$
NH_2{-}CH_2{-}CH_2OH
\qquad\qquad
\begin{array}{l}
R\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH_2\\
R'\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH\\
H_2CO\overset{\overset{O}{\|}}{P}(O^-){-}OCH_2CH_2\overset{+}{N}H_3
\end{array}
$$

胆胺(乙醇胺)　　　　脑磷脂(磷脂酰乙醇胺)

$$
HO{-}CH_2{-}\overset{\overset{NH_2}{|}}{CH}COOH
\qquad\qquad
\begin{array}{l}
R\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH_2\\
R'{-}\overset{\overset{O}{\|}}{C}{-}OCH\\
H_2CO\overset{\overset{O}{\|}}{P}(O^-){-}OCH_2{-}\underset{\underset{\overset{+}{N}H_3}{|}}{CH}{-}COOH
\end{array}
$$

丝氨酸　　　　丝氨酸磷脂(磷脂酰丝氨酸)

此外尚有磷脂酰肌醇和称为心磷脂的二磷脂酰甘油等磷脂。它们的磷酰化物不含氨基。磷脂酰肌醇中是肌-环己六醇，磷脂酰连接在肌醇的 1 位羟基上。

磷脂酰肌醇

二磷脂酰甘油（心磷脂）

2. 缩醛磷脂

缩醛磷脂与一般甘油磷脂的差别，主要是1位上是一个脂烯醚。脂烯醚水解能产生脂肪醛。

RCH_2CHO	$RCH{=}CHOH$	$RCH{=}CHO{-}R'$
脂肪醛	脂烯醇	脂烯醚

$$\underset{\text{甘油脂烯醚}}{\begin{matrix} RCH{=}CH{-}O{-}CH_2 \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \end{matrix}} + H_2O \rightleftharpoons \underset{\text{脂肪醛}}{RCH_2CHO} + \underset{\text{甘油}}{\begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{matrix}}$$

如果由脂肪醛和甘油缩合称缩醛反应，而脂肪醛和甘油失水缩合成甘油脂烯醚（即水解的逆反应），那末脂烯醚就是这个反应的产物，因此含有脂烯醚的磷脂称为缩醛磷脂。缩醛磷脂中的磷酰化物与一般磷脂相同，有磷酰胆碱，磷酰胆胺，磷酰丝氨酸等。

缩醛磷脂在碱性条件下，2位上的脂肪酸水解下来，剩下的羟基与脂烯醚基起加成反应成1, 2位氧环的缩醛。过去把这个产物称作缩醛磷脂，现在知道这是一个后来产生的矫作物。在生物体中自然状态存在的缩醛磷脂实际上是脂烯醚型的。

$$\begin{matrix} (1) & H_2C{-}O{-}CH{=}CH{-}R \\ (2) & HCOC(=O){-}R' \\ (3) & H_2C{-}OP(=O)(O^-){-}OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3 \end{matrix}$$

缩醛磷脂（脂烯醚型）

$$\begin{matrix} H_2C{-}O \\ HC{-}O \end{matrix}\!\!>\!CH{-}CH_2{-}R \qquad H_2C{-}OP(=O)(O^-){-}OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$$

缩醛磷脂（矫作物）

缩醛磷脂在红细胞膜和心脏中含量较多，从红细胞中分离出的缩醛磷脂有19种。缩醛磷脂不仅有磷酰胆碱、磷酰胆胺等不同的磷酰化物之差别，此外脂肪酸的组成也有不同，其中比较特殊的有奇数碳的、含有羟基的脂肪酸。在组织化学中，由于缩醛磷脂能游离出脂肪醛，因而可用无色品红显色。

3．（神经）鞘磷脂

在脑、神经组织和红细胞膜中含有（神经）鞘磷脂。（神经）鞘磷脂经水解可以得到磷酸、胆碱、（神经）鞘氨醇、二氢（神经）鞘氨醇以及脂肪酸。鞘氨醇是一个有十八碳的氨基二醇，陆续发现的天然鞘氨醇有许多种，它们的碳数、羟基数等有差别。含十八碳的鞘氨醇结构如下：

$$CH_3(CH_2)_{12}—CH{=}CH—CH(OH)—CH(NH_2)—CH_2OH$$

（神经）鞘氨醇

$$CH_3(CH_2)_{12}—CH_2—CH_2—CH(OH)—CH(NH_2)—CH_2OH$$

二氢（神经）鞘氨醇

（神经）鞘氨醇的氨基与脂肪酸连接后，成脂酰鞘氨醇。由于氨基脂酰化后是一个酰胺，因此脂酰鞘氨醇也称神经酰胺。

$$CH_3(CH_2)_{12}—CH{=}CH—CH(OH)—CH(NH—C(=O)—R)—CH_2OH$$

脂酰鞘氨醇（神经酰胺）

神经鞘磷脂，简称鞘磷脂，是一个由神经酰胺的羟基与磷酰胆碱所成的磷酸二酯。这个磷脂有二段长的碳氢链：鞘氨醇的一端有14碳～18碳的碳氢链；连接在氨基上的有棕榈酸、榈焦酸和神经烯酸等，都是碳数较多的脂肪酸，因此结构上与甘油磷脂相似。神经鞘磷脂的结构如下：

（神经）鞘磷脂

二、磷脂的性质

1．溶解性质

自然状态的磷脂都有二条比较柔软的长碳氢链的脂肪酸，因而磷脂具有脂溶性质，磷脂的另一组分磷酰化物是强亲水基。例如卵磷脂中磷酰胆碱基是一个内盐离子，因此卵磷脂既能溶解在有机溶剂中成透明溶液，又能溶解于水以胶体状态在水中扩散。

磷脂不同于其他脂类化合物，它在丙酮中不溶解(见表 3-6)，根据这个特点，可以用丙酮把磷脂中的其他脂类溶解除掉。不同的磷脂在有机溶剂中的溶解度，也是有差别的，因而又可以把不同的磷脂分离开来。

表 3-6　磷脂的溶解性质

磷脂种类	乙醚	乙醇	丙酮
卵磷脂	溶	溶	不溶
脑磷脂	溶	不溶	不溶
神经鞘磷脂	不溶	溶于热乙醇	不溶

另外磷脂能与氯化镉结合，生成一种不溶于乙醇的复盐。脑磷脂的氯化镉复盐不溶于乙醚，而卵磷脂和神经鞘磷脂的复盐能溶于乙醚。根据复盐溶解度的差别，可以用来进一步纯化磷脂，也是鉴定磷脂的定性方法。

脂溶性的磷脂在水中扩散成胶体，因此具有乳化性质。卵磷脂能够与其他脂质相结合后，在体内水溶液体系中均匀扩散，因此能够使不溶于水的脂质，处于"溶解"状态。

2．氧化性质

卵磷脂的脂肪酸的组分，有棕榈酸、硬脂酸、油酸、亚油酸、亚麻酸和二十碳四烯酸。分子中 50% 是不饱和脂肪酸，一般在 1 位上为饱和脂肪酸，2 位上为不饱和脂肪酸。纯净的卵磷脂为无色的蜡状物，与空气接触迅速变成黄色，稍久则成褐色，此种变化，一般认为是由于分子中不饱和脂肪酸受氧化所致。

3．水解产物

(1) *溶血磷脂*　卵磷脂的 2 位上的脂肪酸，能够被胰脏或蛇毒中的磷脂酶所水解；1 位上的脂肪酸，能够被脑组织中的酶所水解。磷脂失去一个脂肪酸后的产物叫溶血磷脂，溶血磷脂是一个表面活性物质，能够使红细胞溶解。对进入肠道的食物中脂质，它又是一个乳化剂。

```
         O
         ‖
H2CO—C—R
  |
HOCH  O
  |   ‖        +
H2CO—P—CH2CH2N(CH3)3
      |
      O⁻
```

溶血卵磷脂

当蛇毒中的磷脂酶进入体内，通过产生溶血磷脂，导致溶血。但这还不是引起神经损害的原因，蛇毒中致命的强烈毒性物质是蛇毒蛋白。

(2) *胆碱*　卵磷脂分子中的胆碱是一个季胺，具有强碱性质，与强酸所成的盐即氯化胆碱，是一个中性盐。

$HOCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3OH^-$　胆碱

$HOCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3Cl^-$　氯化胆碱

在脑组织中的磷酸二酯酶，能够把卵磷脂中的胆碱水解下来：

$$\begin{array}{l} \quad\quad\quad\quad\quad O \\ \quad\quad\quad\quad\quad \| \\ O \quad CH_2OCR \\ \| \quad\quad | \\ RCOCH \\ \quad\quad\quad | \quad\quad O \\ \quad\quad\quad | \quad\quad \| \\ \quad\quad CH_2O-P-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3 \longrightarrow \text{甘油}+\text{磷酸}+\text{胆碱} \\ \quad\quad\quad\quad\quad | \\ \quad\quad\quad\quad\quad O^- \end{array}$$

在肝脏中，胆碱能够通过合成卵磷脂来调节脂肪代谢。在神经组织中，乙酰胆碱是一个与神经传导有关的重要物质。

$$CH_3CO-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3OH^-$$

乙酰胆碱

蛇毒的神经毒蛋白能够与神经传导环节中的乙酰胆碱受体蛋白结合，因而能够妨碍乙酰胆碱功能的实现。

三、磷脂在组织细胞中的分布

动物组织中，以脑组织中含磷脂最多，约为肝、肾的2倍，为心肌的3倍。脂质类占大脑物质的比例较高，而磷脂又是脂质类的主要成分（见表3-7）。

表3-7 大脑主要物质的含量

名称	干物质 %	脂质成分	
		名称	占总脂质 %
蛋白质	38～40	磷脂	52
脂质类	51～54	胆固醇	19
无机盐	8～9	糖苷脂	13
其他	—	其他	17

组织中的磷脂是各种磷脂的总称，实际上不同组织中各种磷脂的比例是不相同的（表3-8）。

表3-8 各种磷脂在总磷脂中的比例 （按磷 % 计算）

名称	红细胞基质	牛心	牛肝	牛脑
	%	%	%	%
卵磷脂	33.5	24.2	54.2	29.2
脑磷脂	17.6	16.5	9.4	12.1
磷脂酰丝氨酸	14.3	2.4	4.2	16.6
磷脂酰肌醇	0	0	2.2	0.5
缩醛胆碱磷脂	1.2	17.5	1.5	0
缩醛氨乙醇磷脂	10.4	11.0	3.6	21.1
缩醛丝氨酸磷脂	0	0	0	±
心磷脂	0	8.9	4.1	0.7
磷脂酸	2.2	0	2.2	0.5
神经鞘磷脂	20.1	11.5	5.8	12.5
烷醚磷脂	1.5	11.5	0.5	2.1

在细胞中，各种细胞器所含的脂质量虽然不同，但脂类中的磷脂所占的比例也是最高的，而且大致相仿(表 3-9)。

表 3-9 鼠肝细胞各组分中脂质的含量

细胞组分	脂质(干重)%	各类脂质 %		
		磷脂	固醇	脂肪
细胞核	16	93	4.5	2.5
线粒体	21	93	5.5	1.4
微粒体	32	94	5.8	0
上清液	7	28	3.9	68

四、细胞膜磷脂

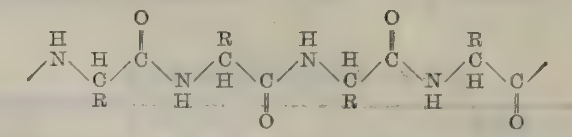
1. 细胞膜的通透屏障

细胞是生物体的最小单位。细胞表面和细胞内的线粒体、叶绿体都是膜结构。细胞膜使细胞具有一种选择性的通透屏障作用，因此细胞能够从周围环境中有选择地摄取养分，而在把代谢物分泌出来时，细胞质的内含物不向外溢出。物质通过细胞膜时，有非常不同于一般半透膜的性质。例如，钾离子能够逆着浓度梯度进入细胞。大肠杆菌在生长期中，钾离子在细胞内外的浓度差，可高达 3000 倍，而体积较小的钠离子，没有这种特点。氨基酸和葡萄糖必须在钠离子存在下才能进入细胞内。这种通透屏障作用是与细胞膜结构的组成物质相关的。

2. 细胞膜基本结构

细胞膜的主要成分是磷脂和蛋白质，另外还有一些固醇等脂质类化合物。过去根据电子显微镜的观察和 X 光衍射的结果分析，认为膜结构基本单位是由"蛋白质-磷脂-蛋白质"组成的象"三夹板"式的稳定结构。

蛋白质用一段肽链结构表示：



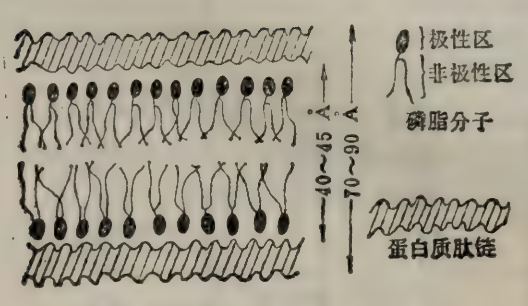


图 3-1 "蛋白-磷脂-蛋白"膜结构

这种膜结构的模式中，磷脂成双分子层。从膜面积的估计和出现双折射的现象也证明存在着双分子的磷脂层。

把磷脂与水所成的悬浮体在适当条件下，以高能声波处理，磷脂分子群集在一起形成密集的小泡。这种小泡具有小囊状结构(图 3-2)，称为脂质体。脂质体壁中的磷脂排列，经用 X 光衍射分析的结果是与生物膜结构相似的(图 3-1)磷脂双分子层。脂质体无蛋白质，磷脂的极性区在脂质体壁的两侧水相中。脂质体是人造膜，膜中双分子层的形成

可以看成是磷脂与水的一种物理化学性质的结果。

细胞膜中，磷脂的极性端例如卵磷脂中的磷酰胆碱是一个内盐，这个极性端与膜表面外周蛋白的离子基团相吸引，趋向表面。外周蛋白有亲水表面，磷脂的极性端也是亲水的，都在水液环境中。在非极性端是脂肪酸的碳氢链，由于亲脂疏水性质，使它具有与油脂在水中相似的情况，分子聚集成油滴，不与水相溶，因此磷脂的碳氢链，也有离开水溶液向膜内部取向，另一方面膜内许多磷脂分子的碳氢链按照“结构相似相溶”原则进一步相互吸引在一起，形成非常有规则地排列着的双分子层。

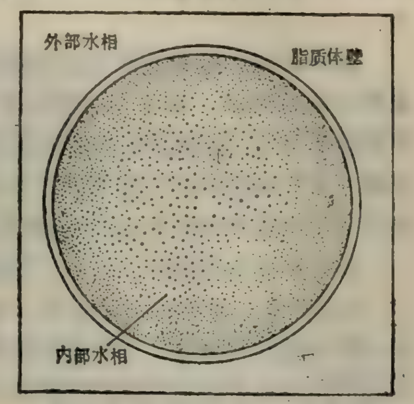


图 3-2 脂质体小囊——人造膜

3. 流动镶嵌膜结构

双分子层磷脂中间的碳氢链，在细胞膜中形成一个疏水区，使细胞质膜外侧的一些水溶性的分子很难通过，因而认为双分子层的磷脂起着屏障作用。这个疏水区对于脂质和有机溶剂不应是障碍。由于细胞的养分是从体液中或从环境的水溶液中摄取的，过去认为在磷脂层的间断处进入细胞膜内侧的，实际上在磷脂层间断处存在着蛋白质，其中的有运载功能的蛋白有选择地使某些物质通过细胞膜(图 3-3)。例如细胞质膜对钾离子和钠离子的运输是钾、钠泵的功能，钾、钠泵是一种称作 ATP 酶的运载蛋白。此外一些环状多肽抗菌素如缬氨霉素，它在细胞膜上能构成钾离子的通道。缬氨霉素是一个含有缬氨酸为主的有机酸的环状多肽化合物，环外侧是疏水性的，环内侧是亲水性的，由八个羰基构成极性孔道。例如由大豆磷脂制成的人造膜，钾离子不能通过。若在膜中加入缬氨霉素，环外疏水基结合在脂质层中，环内亲水孔道适合于钾离子通过。这也是一种选择性通透方式。

细胞质膜选择性的通透是由镶嵌有蛋白质磷脂层所起的屏障与通道作用。镶嵌膜结构用图 3-3，3-4 示意如下。

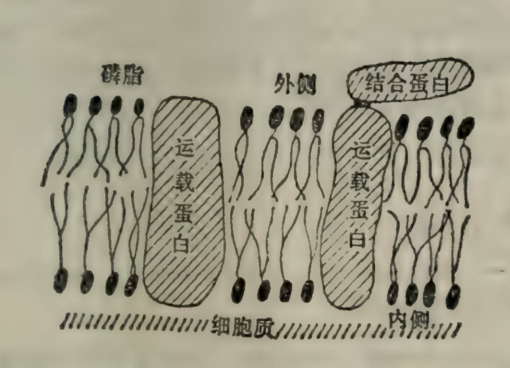
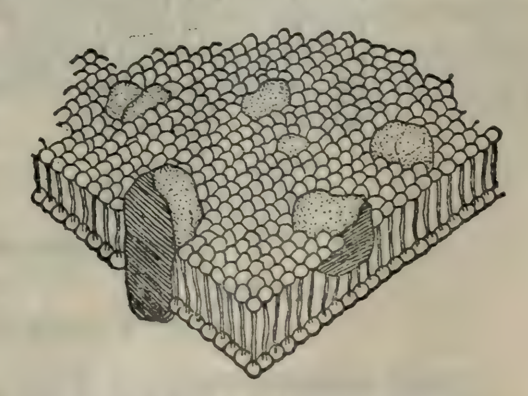


图 3-3 膜通道——运载蛋白


图 3-4 流动镶嵌膜结构模型

膜结构的脂质-蛋白体系中，脂质的主要组分是各种磷脂，还有糖苷脂和胆固醇。脂质在膜的两侧分布是不对称的。磷脂酰胆碱、鞘磷脂主要在细胞膜的外侧，磷脂酰乙醇胺和磷脂酰丝氨酸主要在膜内侧；糖苷脂和胆固醇也在膜的外侧。这些脂质规则地排列着，但又有转动、摆动和流动自由，它们处于液晶状态。液晶态随着温度提高成为液态而失去规则的排

列，随着温度降低成为固态而失去流动性，液晶状态是维持细胞正常生理的必要条件。肾上腺皮质、髓鞘等脂质在37°C时处于液晶状态，正好与人的体温一致，显然不是偶然的巧合。

脂质从固态转变为液晶态的温度，与脂质的组成成分有关，例如脑磷脂转变成液晶的温度与体温相同。由于不同细胞的膜中脂质成分不同，同一种磷脂又会有碳氢链长短和双键多少等差别，因而保持液晶的温度对不同生物的细胞是不相同的。过冷或过热的环境都会破坏脂质的液晶状态而影响生物的正常生理活动。例如常温微生物在低于脂质凝固点的温度和过高温度中培养，微生物就停止生长。

膜中的蛋白质实际上不象"三夹板"模式那样，把它看成机械的隔膜而用折迭肽链来表示，实际上是一些结构和功能各不相同的球蛋白，有的嵌在磷脂层中，有的在表面上。富于疏水性表面的蛋白分子，埋藏在磷脂疏水层中，有的蛋白部分嵌在磷脂层，而以它的亲水性部分伸出于膜表面，糖蛋白的糖链是亲水的也暴露在表面上。在细胞膜表面尚有外周蛋白，外周蛋白具有几十万分子量，它与膜磷脂的极性端、糖蛋白的糖链结合在一起。一个外周蛋白可与相当数目的磷脂结合着，因而使这片磷脂的流动性受到约束，当外周蛋白发生流动时也会带动膜磷脂发生横向的流动。

在膜结构中的蛋白还与膜内侧的纤维网络系统相结合，使膜结构在整体变得更稳定。由微管蛋白形成微管的纤维限制膜结构的流动性，而由肌动蛋白类形成微丝的纤维具有收缩的功能，因此微丝的收缩运动必然使膜结构上与它结合着的那部分产生相应的移动。根据上面所讲的膜结构，可称为流动镶嵌膜结构(图3-5)。

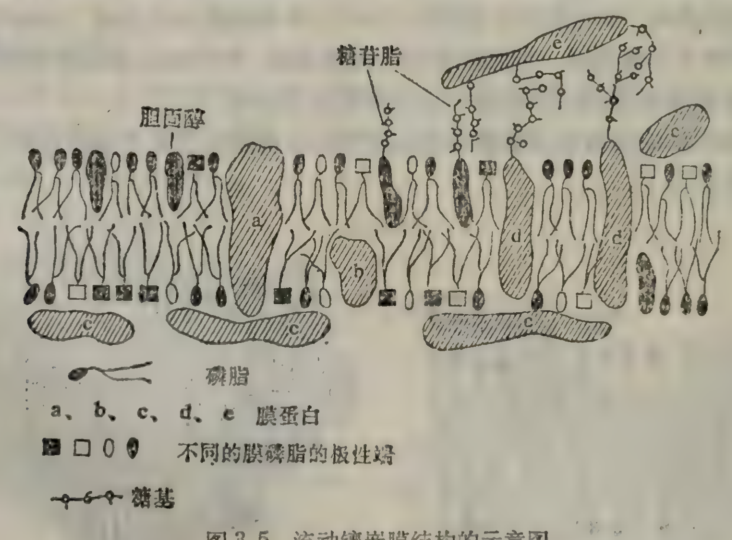


图3-5　流动镶嵌膜结构的示意图

不同细胞或不同细胞器的膜结构，都有它们结构和功能上的特殊性，所以由不同细胞构成的组织器官才有自己的功能。一般说来，功能比较简单的膜结构含脂类的量较高，含蛋白质的量低，蛋白种类也少。功能比较复杂的膜结构则蛋白质含量高，蛋白种类也多得多。由此可知膜结构功能的特殊性主要取决于膜中蛋白质的组成。由不同蛋白质构成的相应生化反应体系中，磷脂也不是与功能无关的组成，在细胞中不少蛋白的功能要求膜结构是完整的，如果抽提去磷脂后，反应就不进行，加入磷脂反应能力就恢复；改换脂质成分也会

使功能发生变化，主要原因是磷脂能够影响蛋白质的构象，而蛋白的功能是与构象相关的。

第四节 糖 苷 脂

在脑和神经组织中含有糖苷脂。糖苷脂主要有脑苷脂和神经节苷脂，是一些脂酰鞘氨醇的糖苷，存在于动物细胞膜表面。

一、脑 苷 脂

脑苷脂是脂酰鞘氨醇的半乳糖苷或葡糖苷。根据脂酰鞘氨醇组分中的脂肪酸不同，脑苷脂分羟脑苷脂、角苷脂、羟烯脑苷脂和烯脑苷脂，分别含有2-羟基廿四烷酸、廿四烷酸、羟廿四烯酸和廿四烯酸。羟脑苷脂的结构如下：

羟脑苷脂

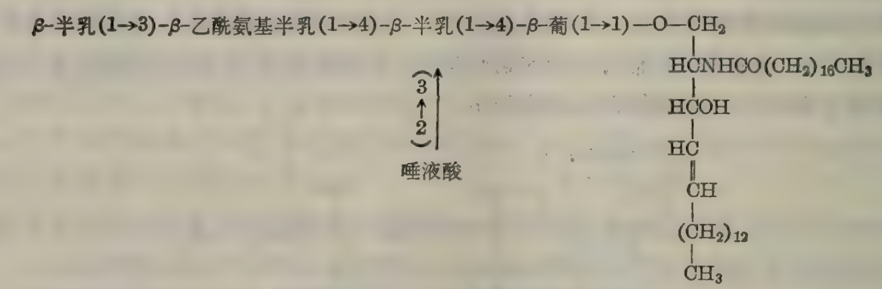
脑苷脂所含的脂肪酸除廿四碳羧酸外，尚有 C_{18}, C_{20}, C_{22}, C_{23}, C_{25} 碳数的脂肪酸。随着年龄增长，这些脂肪酸间的比例也有变化。按照糖基组成分类，只含一个葡萄糖或一个半乳糖的脑苷脂外，尚有含有二个以上糖基的糖苷脂，例如二糖基神经酰胺具有神经酰胺-葡糖-半乳糖(Cer-Glc-Gal)结构。大多数糖苷脂有 Cer-Glc-Gal 的核心结构，三糖基神经酰胺是神经酰胺-葡糖-二半乳糖(Cer-Glc-Gal-Gal)．在人细胞膜上的四糖基神经酰胺有 Cer-Glc-Gal-Gal-Gal NAc(乙酰氨基半乳糖)。

脑苷脂中的半乳糖基尚有以硫酸酯的形式存在，称为硫酸脑苷脂。

硫酸脑苷脂

二、神经节苷脂

神经节苷脂简称节苷脂，最初从脑和神经组织中提取出来，以后发现广泛存在于细胞质膜表面。这是一个含有一个或多个唾液酸(乙酰神经氨酸)的脂多糖，具有 Cer-Glc-Gal-GalNAc 的核心并有分支。不同来源的节苷脂的脂肪酸有所不同，脑组织节苷脂含有 80～90% 硬脂酸，红细胞节苷脂的脂肪酸主要是廿二碳和廿四碳酸。节苷脂按照唾液酸数目有单唾液酰节苷脂，二唾液酰节苷脂，三唾液酰节苷脂，分别用 GM, GD, GT 表示，并以单唾液酰节苷脂 GM1 为基本结构。不同的节苷脂可以认为从 GM1 衍生出来的。GM1 的结构如下：



神经节苷脂-GM1(单唾液酰神经节苷脂)

节苷脂的低聚糖链在不同情况中长短是不同的。节苷脂 GM1 的 β-半乳糖基上还可以进一步接上一个或二个唾液酸，反之节苷脂 GM1 的半乳(1→3)-β-乙酰氨基半乳糖基可以消失。

节苷脂中的唾液酸是与功能有关的组成，生理条件下，神经氨酸带有负电荷。细胞质膜表面的糖基上的神经氨酸类衍生物具有重要功能。流感病毒在寄主细胞内增殖后，病毒粒子表面上的一种神经氨酸酶把细胞上的神经氨酸水解除去，病毒才能从细胞中释放出来。在肿瘤细胞中唾液酸遮盖了肿瘤上的抗原，用霍乱弧菌中提取出来的神经氨酸酶把唾液酸水解除去后，可以增加淋巴细胞对肿瘤细胞的攻击作用。霍乱毒素是通过与细胞上的霍乱毒素受体结合后产生作用的，细胞上的受体是节苷脂-GM1；促甲状腺激素的靶细胞上的受体是节苷脂-GD1b。看来，节苷脂中的唾液酸也是重要的。正常细胞间的生长接触抑制与节苷脂的糖链长短有关，肿瘤细胞因节苷脂糖链短缺失去接触抑制的性质。在人体中，节苷脂在正常情况下水解成脂酰鞘氨醇。节苷脂代谢障碍是能导致婴儿死亡的一种遗传病，患者由于缺乏一种使节苷脂水解成脂酰鞘氨醇的糖苷酶，使节苷脂过分地积累所致。

第五节 萜式脂质

在生物体中，存在着由若干个异戊二烯碳架构成的脂质化合物：

$$\underset{\text{异戊二烯}}{CH_2{=}\overset{\overset{\large CH_3}{|}}{C}{-}CH{=}CH_2} \qquad\qquad \underset{\text{异戊二烯碳架}}{C{-}\overset{\overset{\large C}{|}}{C}{-}C{-}C}$$

属于这种形式的脂质，主要有天然色素中的类胡萝卜素等化合物。从它们的结构中，可

以认出异戊二烯碳架。由"五碳"整数倍组成的碳架，有规则地出现甲基侧链。由于植物的芳香油中，由二个异戊二烯单位构成的化合物，称为萜类，因此类胡萝卜素等脂质，也认为是萜式脂质。

由三个异戊二烯单位构成的法尼醇(金合欢醇)，具有昆虫保幼激素的活性，是一个倍半萜的醇：

$$CH_3-\overset{\overset{CH_3}{|}}{C}=CH-CH_2-CH_2-\overset{\overset{CH_3}{|}}{C}=CH-CH_2-CH_2-\overset{\overset{CH_3}{|}}{C}=CH-CH_2OH$$

法尼醇(金合欢醇)

法尼醇可用下面的简式表示：

CH_2OH

法尼醇

在叶绿素分子中的长链脂肪醇基，是由四个异戊二烯单位构成的。称为植醇或叶醇：

$$CH_3-\overset{\overset{CH_3}{|}}{CH}-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{\overset{CH_3}{|}}{CH}-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{\overset{CH_3}{|}}{CH}-CH_2-CH_2-CH_2-\overset{\overset{CH_3}{|}}{C}=CH-CH_2OH$$

植醇(叶醇)

在鲨鱼肝中分离出来的鲨烯是由六个异戊二烯构成的不饱和脂肪烯烃，分子中的双键全是反式的：

鲨烯

番茄红素是番茄中的红色色素，是由八个异戊二烯单位所构成的，中间有十一对共轭双键。碳的序数编号如下：

番茄红素

动物、植物和微生物中存在的一些称为类胡萝卜素的天然色素，一般都有类似胡萝卜素的结构。胡萝卜素是由八个异戊二烯单位构成的，中间有连续的共轭双键，但碳氢键二端有一个或二个环。根据环上的双键数目或位置等差别有 α, β, γ, δ, ε, ζ 等六种不同的胡萝卜素(表 3-10)，其中以 β-胡萝卜素为比较重要，它是维生素 A 的前体。

β-胡萝卜素

β-胡萝卜素在动物体内能够在 15 位上被氧化断裂成维生素 A:

CH_2OH

维生素 A

表 3-10 胡萝卜素类

种类	结构	来源
α-胡萝卜素		植物
β-胡萝卜素		动物和植物
γ-胡萝卜素		植物中少量存在
δ-胡萝卜素		番茄，细菌
ε-胡萝卜素		海藻，硅藻
ζ-胡萝卜素		木瓜

胡萝卜素、番茄红素和它们的氧化物，统称为类胡萝卜素化合物，约有 60 多种。例如玉米黄质是 3, 3′-二羟基 β-胡萝卜素，存在于玉米、蛋黄和人的体脂中；在节肢动物中，如蟹、虾加热后所呈的红色是虾红素，由虾青素氧化而成。虾青素和虾红素也是 β-胡萝卜素的氧化物。此外尚有存在于细菌中的色素如紫菌红素，也是类胡萝卜素（表 3-11）。

表 3-11　几种类胡萝卜素

名称	结构
玉米黄质	
紫菌红素	
虾青素	
虾红素	

第六节　固醇和类固醇

一、固　醇

1. 固醇的结构

固醇是脂质类中不被皂化、在有机溶剂中容易结晶出来的化合物。从固醇的结构中，可以认出有类似异戊烯的碳骨，例如羊毛固醇的碳架和鲨烯很相象，只要鲨烯分子中几个双键旁的碳连接起来，甲基转换位置后，便能成有四个环的羊毛固醇。

鲨烯　　　　羊毛固醇

一般固醇结构都有一个环戊烷多氢菲环，但侧链上的甲基与羊毛固醇相比，有不同程度的减少，一般在环戊烷多氢菲的 AB 环之间和 CD 环之间都有一个甲基，称为角甲基。带有角甲基的环戊烷多氢菲称"甾"，因此固醇也称为甾醇。

菲　　　　环戊烷多氢菲　　　　甾

最常见的固醇是胆固醇，也称胆甾醇。固醇的典型结构一般以胆烷(甾)醇为代表。胆烷醇和粪烷醇是二氢胆固醇的顺反异构体。根据胆烷醇和粪烷醇的结构式，对固醇的碳架编号和构象特点分别介绍如下：

甾体上的碳按胆烷醇结构式中编号表示。在 3 位上有一个羟基；10 位和 13 位上各有一个甲基，分别编为 18, 19；在 17 位上，固醇一般有一个 8～10 个碳侧链。

二氢胆固醇的 17 位上是一个异辛基，因此可命名为 17-异辛基甾醇-[3]：

胆烷(甾)醇

胆烷醇的 3 位羟基是 β 型的，AB 环反式构型。一般 β 型用“实线”连接，α 型用“虚线”连接。β 型表示基团在环平面上边，α 型表示基团或原子在环平面下边。AB 环有反式和顺式两种，通常可用 10 位甲基和 5 位 H 的相对位置来表示：反式 AB 环中，10 位甲基在环的上面和 5 位 H 在环的下面，所以甲基用实线表示，连接 5 位 H 的键用虚线表示。顺式 AB 环中，10 位甲基和 5 位 H 都在环的上面。由于 10 位甲基总是在环的上面，所以 5 位 H 用虚线连接的是反式 AB 环，5 位上不写出虚线和 H 的是顺式。胆烷醇的异构体粪甾醇，它的 AB 环是顺式的，为了把顺式构型强调出来，就写出 5 位 H 和直线表示的键：

粪甾醇

胆烷醇和粪甾醇的构象式中，顺式 AB 环与反式 AB 环在几何位置上的差别，能更清楚地表达。

2. 胆固醇

胆烷醇在 5, 6 位脱氢后的化合物是胆固醇。胆固醇在 7, 8 位上脱氢后的化合物是 7-脱氢胆固醇。

胆烷醇的构象(反式AB环、反式BC环、反式CD环)　　粪甾醇的构象(顺式AB环、反式BC环、反式CD环)

胆固醇　　7-脱氢胆固醇

胆固醇是细胞膜脂质中的一个成分,主要在肝脏中合成,动物组织中胆固醇含量以脑组织为最多,在肝、骨、胰脏中较多,心脏次之。猪脑和蛋黄中的胆固醇含量高达2%,因此可选择作为综合利用生产胆固醇的材料。

7-脱氢胆固醇存在于皮肤和毛发,经阳光或紫外线照射后,能转变为维生素 D_3。胆固醇可以通过化学方法脱氢成7-脱氢胆固醇,生产维生素 D_3。

胆固醇具有液晶的性质。溶液既有流动性,又能够在一定条件下非常有规则地象晶体那样排列起来,胆固醇与不同的脂肪酸制成的各种胆固醇酯,是一些有显著温度效应的液晶材料。

胆固醇是临床生化的一个指标,在正常情况下,机体从肝脏合成的胆固醇和从食物中摄入的胆固醇,转化为甾体激素或成为细胞膜的组分,并使血液中胆固醇的浓度保持恒定。当肝脏因实质性损害严重时,胆固醇浓度降低。但在一般常见病中,胆固醇往往是浓度提高,例如,梗阻性黄疸时,胆固醇就上升;在肾病综合症中,胆固醇提高很多倍;在冠心病和粥样动脉硬化症中,粥样块斑是胆固醇等脂质沉积而成;胆结石症的胆石成分,几乎全是胆固醇的结晶。因此胆固醇是一个在医学上受到重视的脂质。

胆固醇与毛地黄糖苷容易结合生成沉淀,可用来作为胆固醇的含量测定。胆固醇在氯仿溶液中,与乙酸酐及浓硫酸作用产生蓝绿色,胆固醇氯仿溶液与浓硫酸混合产生蓝紫色,这两种呈色反应,都可以进行比色分析,但其他在环中有双键的固醇,也有相似的呈色反应。

$$\text{胆固醇} + (CH_3CO)_2O \;(\text{乙酸酐}) \longrightarrow \text{脱水胆固醇} + 2CH_3COOH$$

胆固醇　　脱水胆固醇

脱水胆固醇 + H_2SO_4 ⟶ 蓝绿色化合物 + H_2O

3. 其他固醇

在酵母和麦角菌中，含有麦角固醇。它的 B 环上有二个双键，17 位上的侧链是九个碳的烯基，麦角固醇经紫外照射能转化为维生素 D_2。

麦角固醇

存在于大豆油及其他种豆油中的豆固醇，和在高等植物中分布很广的谷固醇，它们的 B 环上有一个双键，17 位上有一个十一碳的侧链。

豆固醇　　谷固醇

麦角固醇、豆固醇和谷固醇，在人体肠道中都不被吸收，而且被认为饭前服用 β-谷固醇还能抑制肠粘膜对胆固醇的吸收，因此谷固醇在临床上也可作为一个降血脂的药物。

二、类　固　醇

人体中许多激素和胆汁中的胆酸，昆虫的蜕皮激素，植物中的皂素和强心糖苷配基等，这些生理功能各不相同的化合物，都有环戊烷多氢菲的甾体碳架。这些甾体化合物统称为

表 3-12　几种类固醇化合物

碳　　数	代表性类固醇	含氧基团	
		3　位	其他位置
人体　C_{27}～C_{30}	胆　固　醇	β-OH	
C_{24}	胆　酸	α-OH	OH, COOH
C_{21}	孕酮(激素)	C═O	C═O
	皮质激素	C═O	C═O, OH
C_{19}	睾　丸　酮	C═O	OH
C_{18}	雌　二　醇	OH	OH
昆虫　C_{26}	蜕皮激素(动、植物)	β-OH	OH, C═O
植物　C_{27}	薯蓣皂素	β-OH	OH
C_{23}	毛地黄强心苷配基	β-OH	OH

类固醇。类固醇与前面提到的固醇比较，甾体上的氧化程度较高。固醇在3位上有一个羟基，而类固醇含有二个以上的含氧基团，这些含氧基团以羟基、酮基、羧基和醚基(氧环)的形式存在。固醇本身也往往包括在类固醇总称之中，不同的类固醇按生理功能不同，含碳数和含基团都有所差别(表3-12)。

1．胆酸和胆汁酸

胆囊分泌的胆汁，是胆汁酸的水溶液。胆汁酸是胆酸的衍生物，由胆酸与牛磺酸或甘氨酸生成胆酸酰牛磺酸(牛磺胆酸)和胆酸酰甘氨酸(甘氨胆酸)。它们的结构如下：

胆酸

$NH_2—CH_2—COOH$
甘氨酸

$NH_2—CH_2—CH_2SO_3H$
牛磺酸

牛磺胆酸

甘氨胆酸

胆酸的3, 7, 12位上的羟基，都是α型，AB环是顺式的，侧链上的羧基或磺酸基都是亲水基团。

胆酸或胆汁酸的钠盐是乳化剂，能够把肠道中的脂肪、胆固醇和脂溶性维生素乳化，还能使分解脂肪的脂肪酶活化，因此有促进对脂质类营养物的消化和吸收作用。

2．脱氧胆酸

胆酸失去一个羟基，可得到鹅(脱氧)胆酸和脱氧胆酸。鹅胆酸在3, 7位上仍有二个α-羟基。脱氧胆酸的二个α-羟基在3, 12位上。

鹅(脱氧)胆酸

脱氧胆酸

鹅(脱氧)胆酸和脱氧胆酸都有乳化剂作用，鹅(脱氧)胆酸能使胆固醇溶解，因而用来作为治疗胆石症的口服药。另外它也能部分地抑制胆固醇的形成，口服后能改变胆汁的组成，因而增加了胆固醇的溶解性。

3. 甾类激素

甾类激素属于类固醇，大多数在结构上除羟基外，尚有酮基，17 位侧链也有变化。睾丸酮等雄性激素和雌二醇等雌激素，17 位上已无侧链；孕酮在 17 位上为二碳的乙酮基；皮质激素的 17 位侧链是羟基乙酮基。另外，这些激素 A 环上有双键，其中雌激素 A 环有三个双键，因此在 AB 上没有角甲基。睾丸酮、雌二醇、孕酮和脱氢考的松，作为几种甾类激素的典型，它们的结构如下：

睾丸酮

雌二醇

脱氢考的松(强的松)

孕酮(黄体酮)

4. 植物类固醇

植物中的类固醇，有许多是药用植物的成分。毛地黄糖苷配基是强心药；皂素有溶血性质；薯蓣皂素则是生产甾体激素的起始原料；不少植物中，还含有昆虫蜕皮激素活性的类固醇。

薯蓣皂素

毛地黄糖苷配基

蜕皮激素(昆虫)

蜕皮素(家蚕)：	R′=R″=H
蜕皮甾酮：	R′=OH，R″=H
26-羟基蜕皮素：	R′=H，R″=OH
20，26-羟基蜕皮素：	R′=R″=OH

蜕皮激素(植物)

牛膝甾酮: R=

百晴甾酮: R=

罗汉松甾酮: R=

第四章　蛋白质的化学

第一节　蛋白质在生命活动中的重要性

生物体的化学组成是极其复杂的。成分繁多，结构复杂，有各种高分子的和低分子的物质，有各种有机物和无机物。构成生命最基本的物质有蛋白质、核酸、多糖和脂类。其中以蛋白质为最重要，核酸则最为根本。蛋白质普遍存在于一切生物体内，各种生物功能往往是通过它来体现的。至于多糖类和脂类物质，虽也担负一些如储存、保护、润滑、运输、支撑等生物功能，但它们往往与蛋白质结合成为糖蛋白或脂蛋白在起作用的。

早在十九世纪七十年代，革命导师恩格斯就洞察到蛋白质的重要性，指出生命是蛋白体的存在方式，无论在什么地方，只要我们遇到生命，我们就发现生命是和某种蛋白体相联系的，而且无论在什么地方，只要我们遇到不处于解体过程中的蛋白体，我们也无例外地发现生命现象。他认为生命的主要机能如消化、排泄、运动、收缩、对刺激的反应、繁殖都是与蛋白体有关的，辩证地指出蛋白体与生命活动有着不可分割的联系。当时恩格斯所指的蛋白体，现在看来就相当于蛋白质和核酸为主要成分的复合体。二十世纪的今天，已有大量的科学事实证实了恩格斯关于生命与蛋白体的论断。

首先，蛋白质是生物体的重要组成成分，存在于一切生物体中，从高等动植物到低等的微生物，从人类到最简单的生物病毒，都含有蛋白质，都是以蛋白质为主要的组成成分。以人体来说蛋白质含量占人体总固体量的45%，皮肤、肌肉、内脏、毛发、韧带、血液等等都是以蛋白质为主要成分。表4-1为人体主要器官组织中蛋白质的含量。微生物中蛋白质含量也很高，细菌中一般含50～80%，干酵母中含46.6%，干白地霉中含50%，病毒则除了一小部分核酸外，其余几乎都是蛋白质。一些高等植物茎叶中虽然淀粉和纤维素的含量很高，但在植物细胞的原生质和种子中，蛋白质含量就显得较多，从我国一些主要粮食和杂粮的化学成分中(表4-2)也可看出蛋白质的普遍存在。

蛋白质不仅是生物体的主要组成成分，更为重要的是它与生命活动有着十分密切的关系，生命现象和生理活动往往都是通过蛋白质来实现的，现简述如下。

表4-1　人体各器官组织中蛋白质含量

(每100克干组织中所含蛋白质的克数)

器官与组织	蛋白质含量(%)	器官与组织	蛋白质含量(%)
皮肤	63	肺脏	82
横纹肌	80	脾脏	84
骨胳	28	肾脏	72
脑及神经组织	45	胰脏	47
肝脏	57	消化道	63
心脏	60	体液组织	85

表 4-2 我国一些粮食的主要成分含量(%)

(水分和纤维素等不统计在内)

粮食种类	蛋白质	脂肪	碳水化合物	粮食种类	蛋白质	脂肪	碳水化合物
粳米	6.42	1.01	77.64	大豆	36.3	17.5	26.0
籼米	6.47	1.76	77.50	蚕豆(干)	24.51	1.55	56.67
糯米	6.69	1.44	76.25	豌豆	22.78	1.35	54.7
小麦	9.42	1.47	68.74	绿豆	22.25	1.08	56.02
精白粉	9.12	0.9	75.65	赤豆	21.44	0.58	55.85
标准粉	10.37	1.7	72.57	花生仁	26.20	39.2	22.0
麦麸	13.90	4.2	56.0	油菜籽	26.34	40.35	17.59
大麦	9.87	1.68	68.04	芝麻	20.30	53.60	12.40
玉米	5.22	6.13	72.40	棉(仁)籽	39.00	33.20	14.80
高粱	10.20	3.0	70.8	薯干	2.9	1.34	77.56

(1) 催化作用　生物体内的一切化学过程几乎都是在生物催化剂——酶的催化下进行的。酶是蛋白质,它存在于一切生物细胞组织中。正是由于各种酶的催化作用,新陈代谢才能沿着一定的途径进行下去,从而才有可能表现出各种生命现象。

(2) 激素作用　在动物体内起某些代谢调节作用以保证动物正常生理活动的激素,有不少是属于蛋白质或多肽。例如胰岛素就是存在于人和高等动物体内起调节血糖作用的一种蛋白激素。

(3) 肌肉收缩作用　动物肌肉的收缩活动过程,也是由肌肉的主要成分——肌动球蛋白与一定物质发生化学变化的结果。有些微生物的鞭毛活动也类似于肌动球蛋白的活动。

(4) 运载工具　高等动物体内氧化作用所需的氧和所生成的二氧化碳是由血液中的血红蛋白输送的,血红蛋白是珠蛋白和血红素的复合物;细胞活动过程中的某些物质,也往往由蛋白质作为运载体,血液中脂肪、脂肪酸、胆固醇、磷脂等物都是与某些蛋白质结合后在血液中运输的;此外在生物氧化过程中发生的电子得失现象,也是靠某些色素蛋白如细胞色素c等来载送完成的。

(5) 免疫作用　机体在受到外界"非己"抗原(异体蛋白)侵袭后,体内能产生一种相应的抗体,并和它进行特异性反应,以消除它的影响,这个过程称为免疫作用。它使人和动物具有防御疾病和抵抗外界病原侵袭的免疫能力。抗体就是一类称为免疫球蛋白的蛋白质。

(6) 生物膜功能　一切生物膜如细胞膜、细胞内各种细胞器的膜以及高等动物的各种复合膜,几乎都是由蛋白质和脂类等物质组成的。生物膜是一类能完成多种生理功能的复合体,是生物体内物质和信息流通的必经之路,也是能量转换的重要场所。它具有保护作用、运动作用、传递细胞之间的信息、选择性吸收物质、能量转换和免疫反应等功能。

(7) 保护结缔功能　高等动物的毛发、肌腱、韧带、软骨和皮等结缔组织,昆虫的外表皮,都是以蛋白质作为主要成分。结缔组织存在于组织间和细胞间质中,具有维持细胞代谢的动态平衡、保持器官组织的正常形态以及防御感染、促进伤口愈合等功能。

(8) 接受和传递调节信息的受体——受体蛋白　如专一地接受各种激素的受体蛋白,蛋白质类的激素受体蛋白在细胞膜上,甾体类激素的受体在细胞内。接受外界刺激的感觉接受器——感觉蛋白,如视网膜上的视色素,味蕾上的味觉蛋白都属之。还有许多药物的受体蛋白。

(9) *控制生长与分化的蛋白质* 参与细胞生长和分化的调节的各种蛋白质。如组蛋白、阻遏蛋白等都属之。

(10) *毒蛋白* 一些侵入动物体后引起各种中毒病状甚至死亡的异体蛋白质。如细菌毒素、蛇毒及虫蠍毒等毒蛋白。

(11) *其他* 如蛋白质在凝血作用、通透作用、营养作用以及动物的记忆活动等方面都起着重要作用。

从上述诸例，充分说明蛋白质在生命活动中的重要作用，生命活动是不能离开蛋白质而存在的。

蛋白质的研究不仅有重要生物学意义和实践价值，而且有重大的哲学意义。19 世纪初，尿素合成的成功，冲破了有机界和无机界所谓不可超越的鸿沟，对宗教神秘论给以沉重的打击。今天，如果我们能用人工的方法合成出蛋白质等物质，并进一步合成出生命，那就必然会使反动的唯心论遭到彻底的破产。我国科技人员树雄心、立壮志，不畏险阻攀高峰，1965 年在世界上第一次用人工方法合成了一种具有生物活性的蛋白质——结晶牛胰岛素，不仅在科学理论上夺得了一项世界冠军，而且有力地批判了唯心主义世界观，为恩格斯关于从无生命到有生命的辩证转化的生命起源理论，提供了一个有力的辩证唯物主义的论据。

第二节　蛋白质的组成

蛋白质在生命活动中有如此重要作用，正是由它本身的组成、结构、性质所决定的。

一、蛋白质的元素组成

从动物和植物组织细胞中提取出来的各种蛋白质，经元素分析，知道它们都含有碳、氢、氧、氮及少量硫元素。这些元素在蛋白质中都以大致一定的比例关系存在。有些蛋白质还含有微量磷、铁、锌、钼等元素。一般干燥蛋白质的元素分析平均值为：

碳：50～55%　　　　氢：6.0～7.0%

氧：20～23%　　　　氮：15～17%

硫：0.3～2.5%

糖和脂肪中一般只含碳、氢、氧三个元素，氮元素是蛋白质区别于糖和脂肪的特征，而且大多数蛋白质中含氮量相当接近，一般恒定在 15～17%，平均 16% 左右。即每 100 克蛋白质中含 16 克氮，因此在蛋白质的定量分析中，每测得 1 克氮即相当于 6.25 克的蛋白质 $\left(\frac{100}{16}=6.25\right)$。

测定含氮量一般都采用微量克氏定氮法。蛋白质样品先经浓硫酸加热消化，使蛋白质中有机氮成为无机氮，然后经碱化蒸馏，放出的氨气用标准酸吸收，再以标准碱来滴定剩余的酸。计算出的含氮量，再乘以 6.25，即可求出该样品中蛋白质含量。

蛋白质定量测定的方法很多，其中以测定含氮量为最基本和常用。此外，280 毫微米紫外吸收法、双缩脲法和福林酚试剂法也是一般实验室中经常使用的方法。

二、蛋白质的水解

蛋白质是高分子物质，分子量大，一般都在一万以上，结构很复杂。但它可以被酸、碱和蛋白酶催化水解，使蛋白质分子断裂，分子量逐渐变小，水解成分子量大小不等的肽段和氨基酸。肽是两个以上氨基酸所组成的片段。随着水解的继续，肽段可以进一步水解成氨基酸，而氨基酸则不能再水解成更小的单位。故氨基酸是蛋白质水解的最后产物，是组成蛋白质的基本单位。

蛋白质水解的方法常用的有酸法和酶法。

根据蛋白质的水解程度，有完全水解和不完全水解二种情况：凡将蛋白质全部水解成为氨基酸的称为完全水解或彻底水解，通常用浓酸在高温条件下进行。凡经过水解将蛋白质分子切断，得到的产物中有各种分子大小不等的肽段和氨基酸的称为不完全水解或部分水解，一般用酶或稀酸在较温和条件下进行。

目前从蛋白质制取L-型氨基酸或测定蛋白质中氨基酸成分时，大多情况下都采用酸法。例如从人发中制取胱氨酸，从白明胶或人发中制取精氨酸，大都是用5.7N的浓盐酸在110°C左右的条件下，水解20多个小时，得到蛋白质的完全水解液——氨基酸混合液，然后再用适当方法进行分离。在制备赖氨酸、精氨酸、组氨酸时可用人胎盘血球、猪血粉，经8N的硫酸水解，得到各种氨基酸的硫酸盐，再用碳酸钙中和，去除硫酸钙后即得自由氨基酸的混合液。酸法对大多数氨基酸很少破坏，也不引起消旋作用，但能使色氨酸破坏。

酶法水解时，由于条件温和，绝大部分氨基酸不受破坏。但它不宜用来制取氨基酸，这是因为酶法水解蛋白质在体外进行时，既要较长时间，且水解又不完全，单用某一种蛋白酶是不可能把蛋白质全部水解成氨基酸的。高等动物消化蛋白质就是在温和条件下，由体内多种蛋白酶协同进行水解，才能将蛋白质全部水解成氨基酸。故酶法常用于蛋白质的不完全水解，以制取水解蛋白。微生物培养基中用的蛋白胨、医药上的水解蛋白针剂和口服粉剂都是用酶法或稀酸法制得的蛋白质不完全水解产物。用酶法进行不完全水解在食品、酿造、制革等生产中也都广泛被应用。

生产上常把蛋白质不完全水解产物按分子大小分别称际、胨、肽。其实际和胨不过是指分子量较大但不确定的多肽混合物。

用酶和稀酸对蛋白质进行不完全水解的方法，在研究蛋白质初级结构中也很有用。

对于蛋白质的水解作用，除酸法、酶法外，还可用碱法。一般用4N $Ba(OH)_2$水解10小时，即可使蛋白质完全水解。但碱法缺点很多，主要是会使氨基酸产生消旋作用，还有很多氨基酸被破坏，故一般不能用来制备L-型氨基酸。

第三节　氨基酸的化学

上面已谈到氨基酸是蛋白质水解的最后产物，是组成蛋白质的基本单位。我们可以把蛋白质中的氨基酸比作多糖中的单糖，但蛋白质与多糖之间有一基本差别，就是多糖中的单糖种类很少，如淀粉只有一种单糖，即葡萄糖。而从各种蛋白质水解后得到的氨基酸(特殊的不计在内)有20种。而这么多种类的氨基酸在不同蛋白质中又都是按照一定的排列顺序

组合起来，并具有一定的空间结构，因此决定了蛋白质的种类如此繁多，结构复杂，功能也各不相同。

一、氨基酸结构上的共同特点

蛋白质水解后所得到的20种氨基酸，它们的结构可以用下面通式表示：

$$\begin{array}{c} H \\ |\alpha \\ R-C-COOH \\ | \\ NH_2 \end{array}$$

(1) 从通式看出这些氨基酸都是一个含 α-氨基 ($-NH_2$) 的有机酸，也就是不管侧链R基的结构怎样，总是有一个氨基连在与羧基 ($-COOH$) 相邻的 α-碳原子上。例如赖氨酸有二个氨基，其中一个连在 α-碳原子上，另一个连在 ε-碳原子上。故蛋白质中的氨基酸都属于 α-氨基酸（脯氨酸和羟脯氨酸是 α-亚氨基酸）。当然在生物体内也有游离的 β-氨基酸，如大脑中存在的游离 β-丙氨酸，肌肉中的肌肽和维生素泛酸分子中都含有 β-丙氨酸的成分，但它并不存在于蛋白质中。

各种氨基酸之间在结构上的差异都表现在R基团上，当R是 $-H$ 时为甘氨酸，R是 $-CH_3$ 时为丙氨酸等等。

(2) 从通式可以看到，除了当R是氢原子（即甘氨酸）以外，其他所有氨基酸上的 α-碳原子都是不对称碳原子。在这碳原子上都连结着四个相互不同的基团或原子（即 $-R$、$-NH_2$、$-COOH$、$-H$）。这四个基团在空间排列的位置可以有两种形式，互为镜影不能重迭，成为两个相对映的异构体，它们的分子式和结构式都相同，只是构型不同。为区别两者，人为规定一种为L-型，一种为D-型，书写时 $-NH_2$ 在左边为L-型，$-NH_2$ 在右边为D-型，如下式所示为L-型和D-型丙氨酸。氨基酸的构型可以与甘油醛的构型相比较后确定。这种由于基团或原子在空间排列的不对称性而引起光学活性的立体结构叫做构型。

$$\begin{array}{c} COOH \\ | \\ H_2N-C-H \\ | \\ CH_3 \end{array} \qquad \begin{array}{c} COOH \\ | \\ H-C-NH_2 \\ | \\ CH_3 \end{array} \qquad \begin{array}{c} CHO \\ | \\ H-C-OH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

L-丙氨酸　　D-丙氨酸　　D-甘油醛

蛋白质中的氨基酸除甘氨酸外都具有不对称的 α-碳原子，故都有D-及L-型之分。目前已知的天然蛋白质中氨基酸都属L-型。D-型和L-型氨基酸在化学结构、熔点和溶解度等性质方面虽然没有区别，但在生理功能上却不同。D-型氨基酸一般不能为生物所利用，甚至能抑制某些生物的生长。例如乳酸菌在含有L-亮氨酸的培养基上可以生长，当换以D-亮氨酸时，乳酸菌不仅不能利用，相反地生长受到抑制，并随着培养基中D-亮氨酸的浓度增加而抑制程度也增加，当恢复给L-亮氨酸时，此菌又能正常生长。

虽然蛋白质中没有D-氨基酸，但在一些微生物和植物的某些组成中常含有D-氨基酸，如具有抗菌作用的短杆菌肽S和酪菌肽中都含有D-苯丙氨酸，多粘菌肽中含有D-丝氨酸和D-亮氨酸。

(3) 任何物质的分子结构中含有不对称因素（如含有不对称碳原子），则都具旋光性，或称光学活性。这种具有旋光性的物质，在旋光仪中可使偏振光的偏振面发生旋转。蛋白质中

的氨基酸除甘氨酸外都有不对称碳原子，故都具有旋光性。D、L-立体异构体也可称为旋光异构体，它们在旋光仪中旋光角度相同，但方向相反。左旋者用(－)表示，右旋者以(＋)表示。

由于旋光角度的大小是和被测液中旋光性物质的性质、浓度、温度、溶剂性质、光波长短以及旋光管的长度有关，因此一种物质的旋光特性是用比旋光值 $[\alpha]_D^t$ 来表示的。可由第二章第 7 页中公式求得。

例如：L-丝氨酸 500 毫克，用水溶解并稀释到 10 毫升，在 1 分米长的旋光管中 25°C 下，测定旋光度为 ＋0.70°，按公式计算它的比旋光值为 ＋14°。

$$[\alpha]_D^{25}=\frac{+0.70^\circ\times100}{5\times1}=+14^\circ$$

每一种具有旋光性的物质在一定条件(溶剂、浓度、温度)下都有一定的比旋光值，是旋光性物质的特性常数，可用于定性和定量分析。各种氨基酸在一定条件下的比旋光值见表 4-3。

必须指出，D、L-构型与旋光性方向，二者并没有直接对应的关系，各种 L-型氨基酸有左旋也有右旋的，即使同一种 L-氨基酸，用不同溶剂测定时，比旋光值和旋光方向也会不同。

当某一氨基酸以 D-型和 L-型各 50% 混合时，彼此旋光抵消，就失去旋光性，这种现象称为外消旋。用化学合成得到的氨基酸都是 D、L 各半的混合物称 DL-型，不具旋光性，但用化学或生化方法可把 D-型和 L-型分开，这时旋光性又表现出来。

二、氨基酸的种类及其结构

蛋白质中常见的氨基酸有 20 种，按照它们的结构可分为脂肪族、芳香族、杂环族三类氨基酸，其中以脂肪族为最多。

1. 脂肪族氨基酸

其分子的主链为一长短不同的脂肪酸。根据分子内所含氨基和羧基数目的不同，又可分为中性、酸性、碱性氨基酸。各种氨基酸的名称，一般使用三个字母的符号，近年也有用单字母的符号表示，如下面括号中所示。

含一氨基一羧基的中性氨基酸：

(1) 甘氨酸 Glycine(符号为 Gly 或 G)

H_2NCH_2COOH (氨基乙酸)

(2) L-丙氨酸 Alanine(Ala 或 A)

$CH_3CH(NH_2)COOH$ (α-氨基丙酸)

(3) L-缬氨酸 Valine(Val 或 V)

$(CH_3)_2CHCH(NH_2)COOH$ (α-氨基异戊酸)

(4) L-亮氨酸 Leucine(Leu 或 L)

$(CH_3)_2CHCH_2CH(NH_2)COOH$ (α-氨基异己酸)

(5) L-异亮氨酸 Isoleucine(Ile 或 I)

```
CH3\
    >CHCHCOOH
C2H5/   |
       NH2
```

(α-氨基-β-甲基戊酸)

这一类中,有些氨基酸除了含氨基和羧基外还有第三种基团。含羟基(—OH)的氨基酸有:

(6) L-丝氨酸 Serine(Ser 或 S)

```
CH2CHCOOH
|   |
OH NH2
```

(α-氨基-β-羟基丙酸)

(7) L-苏氨酸 Threonine(Thr 或 T)

```
CH3CHCHCOOH
    |  |
    OHNH2
```

(α-氨基-β-羟基丁酸)

含硫的氨基酸有:

(8) L-半胱氨酸 Cysteine(Cys 或 C)

```
CH2CHCOOH
|   |
SH NH2
```

(α-氨基-β-巯基丙酸)

L-胱氨酸 Cystine$(Cys)_2$

```
       H                    H
       |                    |
HOOC—C—CH2—S—S—CH2—C—COOH
       |                    |
      NH2                  NH2
```

[二(β-硫-α-氨基丙酸)]

(9) L-甲硫氨酸 Methionine(Met 或 M)

```
CH3SCH2CH2—CHCOOH
             |
            NH2
```

(α-氨基-γ-甲硫基丁酸)

含一氨基二羧基的酸性氨基酸:

(10) L-天冬氨酸 Aspartic acid(Asp 或 D)

```
HOOCCH2—CHCOOH
          |
         NH2
```

(α-氨基丁二酸)

(11) L-谷氨酸 Glutamic acid(Glu 或 E)

```
HOOCCH2CH2CHCOOH
            |
           NH2
```

(α-氨基戊二酸)

当天冬氨酸的β-羧基和谷氨酸的γ-羧基酰胺化时,分别成天冬酰胺和谷氨酰胺,都呈中性,普遍存在于蛋白质中。

(12) L-天冬酰胺 Asparagine(Asn 或 N)

```
CONH2
|
CH2CHCOOH
    |
   NH2
```

(13) L-谷氨酰胺 Glutamine(Gln 或 Q)

```
CONH2
|
CH2CH2CHCOOH
      |
     NH2
```

含二氨基一羧基的碱性氨基酸:

(14) L-赖氨酸 Lysine(Lys 或 K)

$$\underset{NH_2}{\underset{|}{CH_2}}CH_2CH_2CH_2\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH \quad (\alpha,\varepsilon\text{-二氨基己酸})$$

(15) L-精氨酸 Arginine(Arg 或 R)

$$H_2N-\underset{NH}{\underset{\|}{C}}-NH-CH_2CH_2CH_2\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH \quad (\alpha\text{-氨基-}\delta\text{-胍基戊酸})$$

2. 芳香族氨基酸

(16) L-苯丙氨酸 Phenylalanine(Phe 或 F)

$$C_6H_5-CH_2\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH \quad (\alpha\text{-氨基-}\beta\text{-苯丙酸})$$

(17) L-酪氨酸 Tyrosine(Tyr 或 Y)

$$HO-C_6H_4-CH_2\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH \quad (\alpha\text{-氨基-}\beta\text{-对羟苯丙酸})$$

3. 杂环族氨基酸

(18) L-色氨酸 Tryptophan(Trp 或 W)

(吲哚环)$-CH_2\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH$ (α-氨基-β-吲哚丙酸)

酪氨酸和色氨酸在275～280 nm 有紫外吸收高峰，因此用紫外法可以定量测定蛋白质的浓度。

(19) L-组氨酸 Histidine(His 或 H)

HC══C—CH₂CHCOOH（咪唑环：N、NH、C—H；α-碳上 NH₂） (α-氨基-β-咪唑丙酸)

(20) L-脯氨酸 Proline(Pro 或 P)

$H_2C—CH_2$，H_2C、$CHCOOH$，$N—H$ 成环 (四氢吡咯-2-羧酸)

此外，还有一些氨基酸，仅存在于少数蛋白质中，如L-羟脯氨酸和L-羟赖氨酸存在于胶原及弹性蛋白中；L-二碘酪氨酸和L-甲状腺素存在于甲状腺球蛋白中；L-O-磺酰酪氨酸在血纤维蛋白原中发现。这些氨基酸都是生物体在合成整个蛋白质分子后加工形成的，它们的结构式如下:

羟脯氨酸 Hydroxyproline(Hyp 或 Hypro)

$HO—HC—CH_2$，H_2C、$CH—COOH$，$N—H$ 成环 (4-羟基四氢吡咯-2-羧酸)

L-羟赖氨酸 Hydroxylysine(Hyl)

$$\underset{\text{OH}}{\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}}\text{CH}_2\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}_2\text{CH}}\text{COOH}$$ (δ-羟基-α, ε-二氨基己酸)

L-二碘酪氨酸 Diiodotyrosine

$$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_2\text{I}_2-\text{CH}_2\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\text{COOH}$$

L-甲状腺素 Thyroxine

$$\text{HO}-\text{C}_6\text{H}_2\text{I}_2-\text{O}-\text{C}_6\text{H}_2\text{I}_2-\text{CH}_2\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\text{COOH}$$

另外有一些氨基酸虽不存在于蛋白质中，但游离存在于生物体内，与蛋白质代谢关系密切，有鸟氨酸、瓜氨酸等。

L-鸟氨酸 Ornithine(Orn)

$$\text{H}_2\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\text{COOH}$$ (α, δ-二氨基正戊酸)

L-瓜氨酸 Citrulline(Cit)

$$\text{H}_2\text{NCONHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\underset{\text{NH}_2}{\text{CH}}\text{COOH}$$ (α-氨基-δ-脲基正戊酸)

关于蛋白质中的氨基酸，也可根据氨基酸分子中 R 侧链基团的极性，作如下分类：

1）具有非极性的脂肪族侧链，有甘氨酸、L-丙氨酸、L-缬氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸和 L-甲硫氨酸，它们的侧链均属疏水性。

2）具非极性的杂环和芳香族侧链，属疏水性，有 L-脯氨酸、L-苯丙氨酸和 L-色氨酸。

3）具不带电荷的极性侧链，有 L-丝氨酸、L-苏氨酸、L-半胱氨酸、L-酪氨酸、L-天冬酰胺和 L-谷氨酰胺。它们的侧链具亲水性。

4）具解离的侧链基团，有 L-天冬氨酸、L-谷氨酸、L-组氨酸、L-赖氨酸和 L-精氨酸。这些氨基酸侧链的亲水性很强。

三、氨基酸的理化性质

1. 一般物理性质

α-氨基酸都呈无色结晶，各有特殊晶形。它们的熔点极高，都比相应的羧酸或胺要高得多，一般在 200～300°C 左右，往往加热到熔点时已分解，如甘氨酸的熔点为 232°C，而相应的乙酸仅 16.5°C。氨基酸具有高熔点这一性质，说明在晶体中，氨基酸是以两性离子形式存在的。由于各种氨基酸都具有特定的熔点，常用于定性鉴定。

各种氨基酸在水中溶解度不同，如胱氨酸和酪氨酸在水中很难溶解，而脯氨酸却极易溶解。25°C 下每 100 克水中胱氨酸仅溶解 0.011 克，酪氨酸为 0.045 克，而脯氨酸却为 162.3 克，故脯氨酸易潮解不易制得结晶。在酒精中，除脯氨酸和羟脯氨酸可溶解外，其他氨基酸

都不溶或很少溶解。所有氨基酸均溶于强酸强碱中而不溶于乙醚。在分离制取氨基酸时常应用溶解度这一特性。它们的熔点和在水中的溶解度见表 4-3。

2．氨基酸的两性性质

(1) 氨基酸分子上含有氨基和羧基，它既可以接受质子，又可以释放质子，因此氨基酸为两性电解质。

实验证明，氨基酸在水中或固体状态时，并不是以 $NH_2\overset{\displaystyle R \atop |}{C}HCOOH$ 形式存在，而是以两性离子形式存在。所谓两性离子即在同一个氨基酸分子上含有等量的正负两种电荷，如甘氨酸以 $NH_3^+CH_2COO^-$ 形式存在，同时含有一个正电荷和一个负电荷，这种形式又称兼性状态或等离子状态。

以两性离子形式存在的氨基酸，在一定的酸碱条件下可以发生解离作用。当加入酸时，由于 $—COO^-$ 基接受质子，使氨基酸成为带正电荷的阳离子。加入碱时，则 $—NH_3^+$ 基释放质子，与 OH^- 中和，使氨基酸成为带负电荷的阴离子，如下式所示：

$$\underset{pH\ 11}{H_2O+H_2NCH_2COO^-} \underset{H^+}{\overset{OH^-}{\rightleftharpoons}} \underset{pH\ 6}{H_3^+NCH_2COO^-} \underset{OH^-}{\overset{H^+}{\rightleftharpoons}} \underset{pH\ 1}{H_3^+NCH_2COOH}$$

故氨基酸的解离方式取决于其所处环境的 pH 值，也就是在不同 pH 条件下，氨基酸可以有阳离子、阴离子和两性离子三种形式存在。以甘氨酸为例，当甘氨酸在 pH 6 的水溶液中，主要是以两性离子形式存在，当溶液调到 pH 1 的酸性条件下，由于 H^+ 与 $—COO^-$ 结合，这时溶液中的甘氨酸绝大部分成为带正电荷的阳离子。溶液调到 pH 11 时，由于 OH^- 中和了 $—NH_3^+$ 上的 H^+，溶液中的甘氨酸绝大部分成为带负电荷的阴离子，因此调节溶液的 pH，可使氨基酸具有各种带电形式。

(2) 由于甘氨酸在 pH 1 条件下是带正电荷的阳离子，所以在溶液中通以直流电时，它会向负极移动，在 pH 11 条件下，甘氨酸是带负电荷的阴离子，在电场中向正极移动。在某一特定 pH 值时，氨基酸主要是以两性离子形式存在，在溶液中所带净电荷为零，这时虽在电场作用下，但它既不向正极也不向负极移动，这时溶液的 pH 值，称为该氨基酸的等电点。对氨基酸来说等电点就是它的等离点，所谓等离点是指氨基酸的正离子浓度和负离子浓度相等时的 pH，常用符号 IP(或 PI)表示。甘氨酸的 IP 为 5.97，在这 pH 时，甘氨酸绝大多数是以两性离子形式存在。

对于含有一氨基和一羧基的氨基酸来讲，由于羧基的解离程度大于氨基的解离程度，故这些中性氨基酸的等电点都在 pH 6 左右，如丙氨酸为 6.0、丝氨酸为 5.68。至于一些碱性氨基酸和酸性氨基酸，前者等电点相当高，后者则相当低。

每一种氨基酸都有自己特定的等电点(表 4-3)，都在一特定的 pH 值条件下成两性离子，如亮氨酸的 IP 为 6，谷氨酸为 3.22，精氨酸为 10.76。各种氨基酸的等电点之所以不同，是由于各种氨基酸分子上所含氨基、羧基等基团数目以及各种基团的解离程度不同所致的。

由于各种氨基酸都有特定的等电点，当溶液的 pH 值小于某氨基酸的等电点时，则该氨基酸带正电荷，若溶液的 pH 值大于等电点时，则该氨基酸带负电荷。因此在同一 pH 值条件下，各种氨基酸所带的电荷不同。如在 pH 6 的溶液中，甘氨酸是以两性离子形式存在，而谷氨酸因 IP 为 3.22 故成阴离子，IP 为 9.74 的赖氨酸则成阳离子状态。根据这一性质，

表 4-3 各种氨基酸在 25°C 时 PK 和 IP 的近似值、比旋值和在水中溶解度

氨基酸名称	PK_1 (α-COOH)	PK_2	PK_3	IP	L-氨基酸的比旋值 $[\alpha]_D$ 25°C 浓度 1～2%		水中溶解度 25°C g/100g	熔点 °C
					H_2O	5N HCl		
甘氨酸	2.34	9.60		5.97			24.99	290
丙氨酸	2.34	9.69		6.0	+1.8	+14.6	16.51	297
缬氨酸	2.32	9.62		5.96	+5.6	+28.3	8.85	292～295
亮氨酸	2.36	9.60		5.98	−11.0	+16.0	2.19	337
异亮氨酸	2.36	9.68		6.02	+12.4	+39.5	4.12	284
丝氨酸	2.21	9.15		5.68	−7.5	+15.1	25 (20°C)	228
苏氨酸	2.71	9.62		6.18	−28.5	−15.0	20.5	253
半胱氨酸 (30°C)	1.96	8.18 (SH)	10.28 (NH_3^+)	5.07	−16.5	+6.5	溶于水	178
胱氨酸 (30°C)	1.00	1.7 (COOH)	7.48 和 9.02	4.60	—	−232	0.011	261
甲硫氨酸	2.28	9.21		5.74	−10.0	+23.2	5.14 (20°C)	283
天冬氨酸	1.88	3.65 (COOH)	9.60 (NH_3^+)	2.77	+5.05	+25.4	0.50	270
谷氨酸	2.19	4.25	9.67 (NH_3^+)	3.22	+12.0	+31.8	0.84	249
天冬酰胺	2.02	8.80		5.41	−5.6	33.2 (3N HCl)	3.11 (28°C)	236
谷氨酰胺	2.17	9.13		5.65	+6.3	+31.8 (1N HCl)	4.25 盐酸盐	185
赖氨酸	2.18	8.95 (α-NH_3^+)	10.53 (ε-NH_3^+)	9.74	+13.5	+26.0	66.6(20°C) 盐酸盐	224～225
精氨酸	2.17	9.04 (NH_3^+)	12.48 (胍基)	10.76	+12.5	+27.6	71.8 (20°C)	238
苯丙氨酸	1.83	9.13		5.48	−34.5	−4.5	2.96	284
酪氨酸	2.20	9.11 (NH_3^+)	10.07 (OH)	5.66	—	−10.0	0.046	344
色氨酸	2.38	9.39		5.89	−33.7	+2.8 (1N HCl)	1.14	282
组氨酸	1.82	6.00 (咪唑基)	9.17 (NH_3^+)	7.59	−38.5	+11.8	4.29	277
脯氨酸	1.99	10.60		6.30	−86.2	−60.4	162.3	222
羟脯氨酸	1.92	9.73		5.83	−76.0	−50.5	36.11	

就可以通过调节氨基酸混合液的 pH 值，以改变混合液中各种氨基酸的电荷数，再应用离子交换法或电泳法将这些氨基酸分开。

当氨基酸处于等电状态时，由于静电作用，这时氨基酸的溶解度最小，容易沉淀。利用这一性质，可以分离制取某些氨基酸。例如从小麦面筋水解液中提取谷氨酸和用微生物发酵法生产谷氨酸，都是利用等电点沉淀法作为分离制备的方法之一。将含有谷氨酸的发酵液，在边搅动下加入盐酸调节 pH，当 pH 调到 4 时就开始有谷氨酸结晶析出，当调到 pH 3 左右，经静置后，大部分的谷氨酸结晶就沉淀出来。

下面从甘氨酸的滴定曲线来看羧基和氨基的解离和等电点的关系。

当甘氨酸在酸性溶液中，它是以 $NH_3^+CH_2COOH$ 形式存在，可看成是一个二元弱酸，具有二个可解离的 H^+，即 —COOH 上的 H^+ 和 —NH_3^+ 上的 H^+。

$$H_3^+NCH_2COOH \underset{}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} H_3^+NCH_2COO^- + H^+$$

$$H_3^+NCH_2COO^- \overset{K_2}{\rightleftharpoons} H_2NCH_2COO^- + H^+$$

解离常数分别用 K_1, K_2 表示，即

$$K_1 = \frac{[H_3^+NCH_2COO^-][H^+]}{[H_3^+NCH_2COOH]}$$

$$K_2 = \frac{[H_2NCH_2COO^-][H^+]}{[H_3^+NCH_2COO^-]}$$

根据弱酸 (HA) 的电离平衡，可有

$$pH = PK + \lg\frac{[A^-]}{[HA]}$$

即

$$pH = PK + \lg\frac{[盐]}{[酸]}$$

可见当 [盐] = [酸] 时，pH = PK，所以当甘氨酸的酸度有一半被碱中和时，这时测得的 pH 值即是它的 PK 值。当溶液中的

$[H_3^+NCH_2COOH] = [H_3^+NCH_2COO^-]$ 时的 pH 值为 PK_1,

$[H_3^+NCH_2COO^-] = [H_2NCH_2COO^-]$ 时的 pH 值为 PK_2。

我们进行甘氨酸滴定时，以外加酸或碱的量为横坐标，以 pH 值为纵坐标，可得图 4-1 的 S 形曲线。当甘氨酸在 pH6 的水中时，用 HCl 滴定时得到曲线 A，并在 pH 2.4 时发生转折，这时相当于 $-COO^-$ 的中和，在转折点时有 50% 的 $-COO^-$ 被中和，溶液中 $[H_3^+NCH_2COOH] = [H_3^+NCH_2COO^-]$，这时的 pH = PK_1。当滴加 NaOH 时，得到曲线 B，并在 pH 9.6 时有一转折，这时 $-NH_3^+$ 是 H^+ 的供给者，在转折点时有 50% 的 $-NH_3^+$ 解离，溶液中 $[H_3^+NCH_2COO^-] = [H_2NCH_2COO^-]$，这时的 pH = PK_2。

在等电点时，$[H_3^+NCH_2COOH] = [H_2NCH_2COO^-]$

$$K_1K_2 = [H^+]^2 \qquad pH = \frac{1}{2}(PK_1 + PK_2)$$

因此

$$IP = \frac{1}{2}(PK_1 + PK_2)$$

故甘氨酸的等电点为两个解离常数负对数的平均值。

甘氨酸的 $$IP = \frac{2.4 + 9.6}{2} = 5.97$$

图 4-1 甘氨酸的滴定曲线

对于含有三个可解离基团的氨基酸来说，如天冬氨酸解离时有三个解离常数：

$$\begin{array}{c}COOH\\|\\CHNH_3^+\\|\\CH_2\\|\\COOH\end{array} \underset{}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} \begin{array}{c}COO^-\\|\\CHNH_3^+\\|\\CH_2\\|\\COOH\end{array} \overset{K_2}{\rightleftharpoons} \begin{array}{c}COO^-\\|\\CHNH_3^+\\|\\CH_2\\|\\COO^-\end{array} \overset{K_3}{\rightleftharpoons} \begin{array}{c}COO^-\\|\\CHNH_2\\|\\CH_2\\|\\COO^-\end{array}$$

即

$$Asp^+ \overset{K_1}{\rightleftharpoons} Asp^\pm \overset{K_2}{\rightleftharpoons} Asp^\mp \overset{K_3}{\rightleftharpoons} Asp^=$$

当 $Asp^\pm$ 时为等电点，$Asp^=$ 的影响可以忽略不计。因此天冬氨酸的等电点 $IP=\frac{PK_1+PK_2}{2}=2.77$。

3. 氨基酸的化学性质

氨基酸虽是离子化合物，但在溶液状态时存在下列平衡：

$$H_2N-\underset{\displaystyle R}{\overset{}{CH}}-COOH \rightleftharpoons H_3^+N-\underset{\displaystyle R}{CH}COO^-$$

当氨基或羧基起化学反应时，就打破此平衡而向 $H_2NCH(R)COOH$ 方向移动，使反应按分子型进行，因此在化学反应中可用 $H_2NCH(R)COOH$ 分子式表示。

氨基酸分子上除 $-NH_2$ 和 $-COOH$ 外，还有不少特殊基团，因此可起的化学反应很多，这里仅介绍与分析测定有关的各种氨基酸共有的一些化学反应。

(1) *与茚三酮的反应* α-氨基酸与水合茚三酮一起在水溶液中加热，可发生反应，生成蓝紫色物。

先是氨基酸被氧化分解生成醛，放出氨和二氧化碳，水合茚三酮则成还原型水合茚三酮。然后还原型茚三酮与 NH_3 以及另一分子茚三酮进一步缩合生成蓝紫色物。对脯氨酸和羟脯氨酸反应则得到黄色。

$$\text{水合茚三酮} + H_2NCH(R)COOH \xrightarrow{\text{加热}} \text{还原型水合茚三酮} + RCHO + NH_3 + CO_2$$

水合茚三酮

$$\text{还原型水合茚三酮} + NH_3 + \text{茚三酮} \longrightarrow \text{蓝紫色} + 2H_2O$$

还原型水合茚三酮　　茚三酮　　蓝紫色

此反应为一切 α-氨基酸所共有，反应十分灵敏，几个微克氨基酸就能显色。根据反应所生成的蓝紫色深浅，在570毫微米可比色测知氨基酸含量。结合氨基酸纸上层析法、离子交换法和电泳等技术，常用茚三酮作显色剂，以定性鉴定和定量测定氨基酸。此反应对多肽和蛋白质也能显色，但肽越大，灵敏度也越差。另外反应生成的 CO_2，也可用气体分析法定量。

(2) 与醇作用形成酯　所有的氨基酸在无水乙醇中通入干燥氯化氢，然后加热回流，都可以生成氨基酸酯：

$$\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{R-CH}}-\overset{\displaystyle O}{\overset{\nearrow}{C}}-OH \xrightarrow[HCl]{C_2H_5OH} \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{RCH}}-\overset{\displaystyle O}{\overset{\nearrow}{C}}-OC_2H_5 + H_2O$$

各种氨基酸酯的物理化学性质不同，可以用减压分馏法分离。早年就是用此法从蛋白质中分离各种氨基酸酯，得以研究蛋白质中的氨基酸组成。

(3) 与2,4-二硝基氟苯的反应　在弱碱溶液中，氨基酸的氨基很容易与2,4-二硝基氟苯（代号FDNB）作用，生成2,4-二硝基苯氨基酸（简写DNP-氨基酸）。

$$O_2N-\underset{NO_2}{C_6H_3}-F + H_2N\overset{R}{\overset{|}{C}}HCOOH \xrightarrow[\text{室温或 } 40°C]{pH\,8\sim9} O_2N-\underset{NO_2}{C_6H_3}-NH\overset{R}{\overset{|}{C}}HCOOH + HF$$

这反应可用来鉴定多肽或蛋白质N-末端的氨基酸以及测定多肽或蛋白质的氨基酸排列顺序，当初桑格等人对胰岛素初级结构的阐明，主要就是应用了这一方法。

(4) 与亚硝酸的反应　在室温下亚硝酸可以与含游离α-氨基的氨基酸起反应，定量地放出氮气，氨基酸被氧化成羟酸。含亚氨基的脯氨酸则不能与亚硝酸反应。

$$\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{R-CHCOOH}} + HNO_2 \longrightarrow \underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{R-CHCOOH}} + N_2\uparrow + H_2O$$

由于反应所放出的N_2，一半来自氨基酸分子上的α-氨基氮，一半来自亚硝酸的氮，故在一定条件下测定反应所释放的氮气的体积，即可算出氨基的含量，是定量测定氨基酸的方法之一，一般应用的范氏氨基氮测定法就是根据此反应原理。此法较精确，反应很快，室温下10分钟内完成，是分析室常用方法。

生产上还常用此法来测定蛋白质水解程度。由于亚硝酸只能与游离的氨基起反应，蛋白质虽由许多氨基酸组成，但绝大部分的游离氨基都与羧基结合成肽键，故能测得的游离氨基很少。蛋白质水解过程中，肽键逐步断裂，每切断一个肽键就释放出一个游离氨基和一个游离羧基。随着水解的进行，游离氨基随之释放，水解愈完全，被切断的肽键愈多，释放的游离氨基也愈多，与亚硝酸反应所放出的氮量也愈多。在水解过程中，蛋白质的总氮量是不变的，而氨基氮却在不断上升。因此可以用氨基氮与总蛋白氮的比例来表示蛋白质的水解程度。例如医用水解蛋白注射液，其氨基氮占总蛋白氮50%以上，说明蛋白质中有一半以上的肽键已断裂。如果蛋白水解液中氨基氮与总蛋白氮值已接近或两者已达到最大比值，说明肽键已全部断裂，蛋白质已完全水解为氨基酸。

(5) 与甲醛的反应（甲醛法滴定氨基氮）　氨基酸在溶液中有如下平衡：

$$\underset{\displaystyle NH_3^+}{\underset{|}{R-CHCOO^-}} \rightleftharpoons \underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{R-CHCOO^-}} + H^+$$

通常用NaOH直接滴定等当量的NH_3^+时，就可测知氨基酸的含量，但NH_3^+是一个弱酸，它完全解离时的pH约在12～13，这时用一般的指示剂很难准确判断其终点，因而在一般条件下不能直接用酸碱滴定法来定量测定氨基酸。

由于在pH中性和常温条件下，甲醛能很快与氨基酸上的氨基结合，使上述平衡向右移动，促使$-NH_3^+$上的氢离子释放出来，从而使溶液酸性增加，亦即降低了NH_3^+的PK值，

使 NH_3^+ 基团成为更强的酸。这样就可用酚酞作指示剂，用 NaOH 来滴定。每释放出一个 H^+，就相当有一个氨基氮，从滴定所用的 NaOH 量，可以计算出样品中氨基氮的含量，也就可以算出氨基酸的含量。分析化学上称为简接滴定法。

$$\underset{\displaystyle NH_3^+}{R-\underset{|}{C}HCOO^-} \rightleftharpoons \underset{\displaystyle NH_2}{R-\underset{|}{C}HCOO^-} + H^+ \xrightarrow{OH^-} \text{中和}$$

$$\downarrow HCHO$$

$$\underset{\displaystyle NHCH_2OH}{R-\underset{|}{C}HCOO^-}$$

$$\downarrow$$

$$\underset{\displaystyle N(CH_2OH)_2}{R-\underset{|}{C}HCOO^-}$$

这方法虽不够精确，但简便快速，不仅用于快速测定氨基酸含量，也常用来测定蛋白质水解程度。一些发酵工厂也应用此法作常规分析，测定发酵液中氨基氮，以了解发酵过程中氮源利用情况。

四、氨基酸的分离和分析鉴定

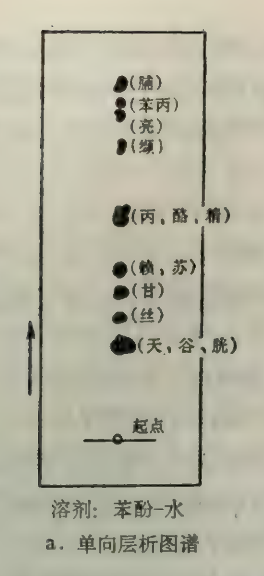
蛋白质中氨基酸种类很多，为了研究蛋白质的组成和结构，以及制备和鉴定的需要，必须进行氨基酸的分离和分析鉴定工作。常用的方法很多，其中纸上层析和薄层层析法常用于氨基酸的分析鉴定方面，离子交换法常用于氨基酸的分离制备和定量测定方面。此外也常应用等电点、溶解度以及与专一试剂作用等方法来分离制备某些氨基酸。在分析鉴定上还有微生物法、酶化学法以及根据某些氨基酸的特殊基团的显色反应等。本节重点介绍纸上层析法和离子交换法。

1. 纸上层析法

纸上层析是分离鉴定微量氨基酸最简易有效的方法，一张滤纸，几十毫升溶剂，就可把仅有几个微克的混合氨基酸分开，并加以鉴定，既可作微量分离，又可作定性分析和定量测定。此法不仅应用于氨基酸，也广泛用在糖、核苷酸、有机酸、抗菌素等的分离鉴定上。

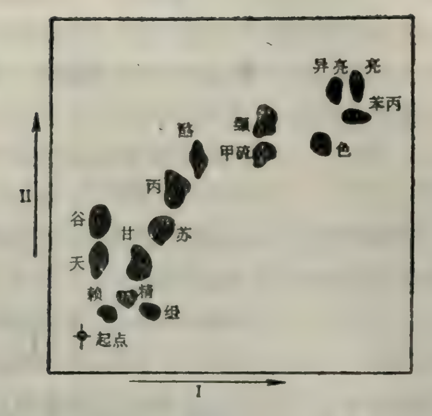
具体操作时，先将样品点在滤纸一端距纸边约 2～3 厘米处，然后将点有样品的一端浸入某一有机溶剂系统中，经毛细管作用使溶剂从纸的一端流向另一端，样品中的混合物也得以分离，滤纸干后再以适当显色剂或在紫外灯下观察所得的层析图谱，加以鉴定（图 4-2a）。

纸上层析一般属于分配层析，它的基本原理主要是根据被分析的样品在二种不相混合的溶剂系统中的分配系数（即在二相中浓度比值）不同而达到分离的目的，相当于一个连续的反向液液抽提过程。纸上层析就是根据这原理，把一种溶剂固定在固体的支撑物上，称固定相，由于滤纸纤维对水有较强的亲和力，一般能吸着 22% 左右的水分，因此滤纸就是含有固定相水的惰性支撑物，另一饱和了水的有机溶剂相（如饱和酚水、正丁醇-乙酸-水）为流动相，当流动相从含有氨基酸样品的滤纸上流过时，各种氨基酸就在这固定相和流动相之间连续不断的抽提分配，根据各种氨基酸在这二相中的分配系数不同，在纸上移动的速率也不同，当流动的溶剂移动到一定的前沿后，各种氨基酸就分别集中在滤纸的不同部位而被分开。



溶剂：苯酚-水

a. 单向层析图谱



溶剂 I　正丁醇:12% NH_4OH:95% 乙醇＝13:3:3

溶剂 II　正丁醇:80% 甲酸:H_2O＝15:3:2

b. 双向层析图谱

图 4-2　氨基酸纸层析图谱

溶质(被分析物)在纸上移动的速率可用 R_f 值来表示，即在一定条件下，被分离的溶质在纸上移动的距离和溶剂所移动的距离之比，又称为比移。

$$R_f=\frac{\text{原点到层析点中心的距离}}{\text{原点到溶剂前沿的距离}}$$　(原点即点样品的位置)

由于各种溶质在一定温度、溶剂等条件下都有特定的 R_f 值，故可根据 R_f 值用于定性鉴别，但通常用已知标准样品同时层析作对照。

当样品中氨基酸种类较多，有些氨基酸在某一溶剂系统中的 R_f 值很相近或相同，经单向层析后不能分开，则可用双向层析，即将样品点在一方形滤纸的角上，先用一种溶剂系统沿滤纸的一个方向进行层析，待干后将滤纸转动 90°，用另一溶剂系统进行第二向层析，待干后经显色，就可得到双向层析图谱(图 4-2*b*)

层析后用茚三酮显色的斑点大小与颜色深浅，和样品中氨基酸含量成正比，定量时可把层析谱上氨基酸的紫色斑点剪下，用一定溶剂(如 1% 硫酸铜酒精溶液)洗脱，在 520 毫微米比色读出光密度，从标准曲线上可求出其含量，误差在 10% 左右。

2. 离子交换法

离子交换树脂是一种不溶于水、有机溶剂和酸碱的高分子物质，上面带有阴或阳离子基团，这些基团能和周围溶液中的其他离子或离子化合物进行交换，而树脂的物理性能不发生改变。应用这种物质进行分离和测定的方法称离子交换法。目前离子交换树脂已广泛用于各种化学物质的分离提纯和分析测定上，如氨基酸的分离和测定；发酵工业上谷氨酸、抗菌素、柠檬酸、核苷酸的提炼；去离子水的制取；生化药物的纯化以及蛋白质和核酸的结构分析等方面。

离子交换树脂的骨架一般是由小分子的单体和交联剂共聚而成的网状结构聚合体，有苯乙烯型、丙烯型、环氧型和纤维素型等。骨架上引入不同的基团，就形成不同类型的离子交换树脂。当引入酸性的磺酸基 ($—SO_3^-H^+$) 时为强酸性阳离子交换树脂，如国产 732 型 (1×7) 树脂；引入羧基 (—COOH) 时为弱酸性阳离子交换树脂；引入碱性的季胺基 [$—N^+(CH_3)_3OH^-$] 时为强碱性阴离子交换树脂，如国产 711 型 (201×7) 树脂；引入弱碱的

叔胺基[$-N(CH_3)_2$]、仲胺基($-NHCH_3$)、伯胺基($-NH_2$)时均为弱碱性阴离子交换树脂。

树脂上这些酸性、碱性基团是可以解离的,并能与溶液中其他阳、阴离子进行交换反应。阳离子交换树脂上的氢离子(或钠离子)可与溶液中的阳离子如阳离子的氨基酸发生交换,并结合在树脂上,反应如下:

$$\underset{(\text{或树脂}-SO_3^-Na^+)}{\text{树脂}-SO_3^-H^+} + \underset{\underset{NH_3^+}{|}}{RCHCOOH} \rightleftharpoons \text{树脂}-SO_3^-\underset{\underset{NH_3^+}{|}}{RCHCOOH} + \underset{(\text{或}\ Na^+)}{H^+}$$

同样阴离子交换树脂上的 OH^- (或 Cl^-) 可以与溶液中的阴离子如阴离子氨基酸发生交换而结合在树脂上,反应如下:

$$\underset{(\text{或树脂}-NR_3^+Cl^-)}{\text{树脂}-NR_3^+OH^-} + \underset{\underset{NH_2}{|}}{RCHCOO^-} \rightleftharpoons \text{树脂}-NR_3^+\underset{\underset{NH_2}{|}}{RCHCOO^-} + \underset{(\text{或}\ Cl^-)}{OH^-}$$

溶液中某一离子或离子化合物能否与树脂上离子进行交换,主要取决于该离子或离子化合物在溶液中的相对浓度以及它与离子交换树脂之间的亲和力大小。

图 4-3 聚苯乙烯磺酸型树脂结构示意

上述 732 型树脂就是磺酸化聚苯乙烯型树脂 (见图 4-3),717 型树脂是季胺化聚苯乙烯型树脂。它们的基本骨架是由苯乙烯和二乙烯苯共聚而成,然后引入基团。二乙烯苯在聚合链中起交联作用,称交联剂,树脂中所含有二乙烯苯的百分数称为交联度。交联度大,则树脂的吸水性小,网状结构紧密,孔隙就小,大分子物质不能进入到树脂颗粒内部进行交换,这种树脂适用于交换分子量较小的物质,如氨基酸和小肽等。反之交联度小,则树脂的吸水性强,分子网状结构疏松,孔隙也大,大分子物质在树脂网状结构内部扩散较快,适用于交换分子量较大的物质,如大肽和蛋白质等。分离制备氨基酸时,大都采用交联度为 7% 的树脂。

离子交换树脂中能进行交换反应的基团数称交换容量,一般用单位重量(干树脂)或单位容积(湿树脂)树脂所能交换的毫克当量离子来表示[即毫克当量/克(干树脂)或毫克当量/毫升(湿树脂)]。732 型树脂每克交换容量为 5 毫克当量左右。

由于离子交换反应一般是可逆的,它符合质量作用定律,因此使用过的树脂可以用酸和碱反复处理,使其再生。树脂上的 H^+ 或 OH^- 未被其他离子置换时,一般称该树脂为 H 型或 OH 型,当 H^+ 为 Na^+、OH^- 为 Cl^- 置换时则称为 Na 型或 Cl 型树脂。

离子交换过程常常在柱中进行,这样的交换过程称离子交换柱层析,即在柱内装一定量的树脂,使要分析分离的物质流经这层析柱连续进行交换作用。

各种氨基酸在一定的 pH 条件下,带电性质和电荷数各不相同。当氨基酸混合溶液调节到某一适当 pH 值时,溶液中各种氨基酸因所带的电荷不同而与离子交换树脂的亲和力不同,就能达到分离的目的。

下面简要介绍用离子交换柱层析来分离制取赖氨酸的过程。

选取含赖氨酸量较高的蛋白质(如猪血粉、人胎盘血),经硫酸水解,用碳酸钙中和,并以草酸除去过量的钙离子,再用活性炭脱色过滤,最后得到 pH7.5 左右的蛋白水解液的滤液。

将滤液注入 732 树脂柱(H 型)上,一直到柱的下端流出液中有赖氨酸出现为止,说明赖氨酸交换已达饱和。这时大部分酸性和中性氨基酸以及部分组氨酸都由柱的下端排出。再用无离子水冲洗,去掉柱中杂质,并将此柱与另一强酸性阳离子交换柱相串联,然后用 $0.05N$ 的氨水进行洗脱,直至流出液为 pH7 时开始收集,在 pH7～9 的流出液中主要含组氨酸,在 pH9～9.5 的流出液中含组氨酸和赖氨酸,流出液在 pH≥10 时为纯赖氨酸部分。对于上述流出的组氨酸和赖氨酸混合液还可进一步用离子交换树脂分离。

离子交换法也可用于定量分析蛋白质的氨基酸组成。一般是把蛋白质水解液调节到 pH2 左右,使通过钠型的阳离子交换柱,氨基酸全部交换上柱。然后分别用不同 pH 和离子强度的缓冲液淋洗(pH3～5.28 柠檬酸缓冲液),氨基酸随着从柱上部向下移动,一般酸性和极性较大的氨基酸先被洗脱下来,接着是中性和碱性氨基酸,而分子量较小的氨基酸则较分子量大的先下来,分别收集洗脱液,经茚三酮显色进行定量测定,即可计算出该蛋白质中各种氨基酸组成的含量。此法目前在研究蛋白质和核酸的化学结构上起着重要作用,近几年来用此法定量测定蛋白质的氨基酸组成等方面已自动化,整个过程只需几小时。

3. 薄层层析法

薄层层析也是一种常用的快速分离分析的方法。它以玻板上的薄层作支持物,薄层可用纤维素、硅藻土、硅胶或氧化铝、聚酰胺等涂布在玻板上制成,然后将样品滴加到薄层上,再选用适当的溶剂进行展开,使样品得以分离。由于样品的展开是在薄层上进行的,所以称为薄层层析。当以纤维素或硅藻土作薄层时,它的分离原理与纸层析原理一样,主要是由于各种物质在固定相和流动相中的分配系数不同而使物质分离。当以硅胶、氧化铝或聚酰胺作薄层时,物质的分离除了由于分配系数不同外,主要是吸附层析的原理,因为硅胶和氧化铝等是吸附剂,根据它对各种物质的吸附能力不同而使各物质达到分离的目的。

薄层层析的优点是灵敏度大,0.1 微克至几十微克的样品均可被分离,比纸层析的灵敏度大 10～100 倍,层析时间短,一般只要几分钟到几十分钟;可用于快速定性以及定量测定。

第四节　蛋白质的结构

蛋白质是由许多氨基酸通过肽键相连而成的高分子物质,分子量很大,一般在 5×10^3～1×10^6 之间,各种蛋白质中氨基酸的组成、排列顺序和肽链的立体结构都各不相同,目前有很多种蛋白质的氨基酸排列顺序和一些蛋白质的立体结构已完全弄清楚。

一、蛋白质的氨基酸组成及其用途

根据蛋白质水解最后产物的分析结果知道,组成各种蛋白质的氨基酸数目不相同。例如牛胰岛素分子由 51 个氨基酸组成,细胞色素 c 由 104 个氨基酸组成,牛胰核糖核酸酶由 124 个氨基酸组成,蛋清溶菌酶由 129 个氨基酸组成,烟草花叶病毒蛋白则由 158 个氨基酸组成。

不仅如此,各种蛋白质中所含的氨基酸种类也不同。有的蛋白质中含氨基酸种类多,有

的则少。组成蛋白质的氨基酸有 20 种，鸡蛋清蛋白中含有 19 种，胰岛素中含 17 种，而鲑鱼精蛋白中却只含 7 种氨基酸。有些氨基酸如色、半胱、甲硫和脯氨酸在许多蛋白质中都没有。

各种蛋白质中各种氨基酸的含量比例也不同。如谷氨酸在小麦面筋中含量高达 40%，而在丝纤蛋白中仅 1.68%，大米蛋白中甚至没有。甲硫氨酸在许多蛋白质中含量都较低，有的甚至没有，但在鸡蛋清蛋白中却含 5.2%。鲑鱼精蛋白中缺少很多种氨基酸，但精氨酸的含量就占了 88.4%。丝纤蛋白中缺乏含硫的氨基酸，但甘氨酸和丙氨酸的量却占 59%。脯氨酸和羟脯氨酸在许多蛋白质中含量很低或没有，但在胶原蛋白中却含 25% 以上。几种常见蛋白质的氨基酸含量见表 4-4。

要从蛋白质水解来制取某种氨基酸时，必须考虑选用含该种氨基酸量高以及来源丰富的蛋白质为材料。味精生产方法之一就是选用含谷氨酸量很高的小麦面筋蛋白来制取的。

表 4-4 几种常见蛋白质的氨基酸组成

(以每 100 克蛋白质中的克数计算)

氨基酸种类	鸡蛋清蛋白	胰岛素(猪)	小麦面筋	大米蛋白	鲑鱼精蛋白	家蚕丝纤蛋白	猪皮明胶	人发	玉米种子蛋白	玉米“奥帕柯-2”种子蛋白
甘氨酸	3.05	5.1	7.2	10.3	3.0	32.57	20.10	4.0	4.7	4.8
丙氨酸	6.72	3.3	5.2		0.9	26.73	8.54	2.7	9.2	6.6
缬氨酸	7.05	6.7	4.2	6.3	3.6	2.85	2.34	5.3	5.7	5.1
亮氨酸	9.20	13.4	7.5	9.0		0.86	2.83	6.3	14.6	9.1
异亮氨酸	7.00	3.3	3.7	5.3	1.0	1.04	1.17	4.7	4.2	3.4
丝氨酸	8.15	4.63			7.0	13.54	3.42	10.3	5.6	4.8
苏氨酸	4.03	3.8	2.7	4.1		1.19	1.86	8.3	4.1	4.0
胱氨酸	0.51	11.02	1.9	1.4				17.6	1.7	1.7
半胱氨酸	1.35									
甲硫氨酸	5.20		2.5	3.4			0.77	0.70	1.3	2.1
天冬氨酸*	9.30	6.5				1.95	5.79	3.8	9.2	10.8
谷氨酸**	16.50	16.9	40.0			1.68	9.92	13.3	22.6	17.5
赖氨酸	6.30	1.5	2.7	3.2		0.50	3.63	1.9	3.0	4.8
精氨酸	5.72	3.0	3.9	7.2	88.4	0.91	8.16	8.7	4.9	8.5
苯丙氨酸	7.66	8.1	5.5	6.7		0.92	2.28	2.3	5.8	4.5
酪氨酸	3.68	11.4	3.8	5.6		10.86	0.54	2.1		
色氨酸	1.20		1.0	1.3		0.36		1.0	0.7	1.3
组氨酸	2.35	4.5	2.2	1.5		0.30	0.89	1.2	2.6	3.3
脯氨酸	3.60	2.19			7.9	0.38	13.66	4.2	9.6	6.6
羟脯氨酸							11.65			
羟赖氨酸							0.92			

* 天冬氨酸中包括天冬酰胺。

** 谷氨酸中包括谷氨酰胺。

脯氨酸和羟脯氨酸选用白明胶，丝氨酸选用丝蛋白，胱氨酸选用人发为原料。因此分析各种蛋白质中氨基酸组成也为制取氨基酸选材提供依据。

了解各种蛋白质中氨基酸组成对医药、营养、食品和科学实验等方面都十分有用。人体和动物通过自身的代谢可以合成大部分的氨基酸，但有一部分氨基酸则自身不能合成，必须由外界食物中供给，这些氨基酸称为必需氨基酸。人体所需的必需氨基酸为L-赖氨酸、L-色氨酸、L-甲硫氨酸、L-苯丙氨酸、L-缬氨酸、L-亮氨酸、L-异亮氨酸、L-苏氨酸。当人缺乏这8种氨基酸中的任何一种时，生长发育就不好，甚至引起一些缺乏症。昆虫的必需氨基酸除上述8种外还增加L-精氨酸和L-组氨酸，这两种氨基酸人体也可合成，但合成速度很慢，称半必需氨基酸。至于另外一些氨基酸如甘、丙、丝、天冬、谷、脯、羟脯、胱、半胱氨酸等，由于在人体中可以从其他有机物（如糖）转化来，故称为非必需氨基酸。

我们知道蛋白质是食物营养的重要成分，一种蛋白质如含有全部必需氨基酸，能支持动物正常生长，称为完全蛋白质，如酪蛋白、卵蛋白、大豆蛋白、大米蛋白等，蛋白质组成中缺少一种或几种必需氨基酸时，称为不完全蛋白质，如白明胶等，当用它做唯一的蛋白质食料，就会引起营养缺乏症。因此一个蛋白质的营养价值高低，是要看它是否含有全部必需氨基酸及其含量多少来衡量的。

人所需的蛋白质大约有70%来自粮食，因此谷物蛋白质的必需氨基酸（特别是赖、色、甲硫、苏氨酸）含量，会影响到人体对谷物蛋白的利用价值。

一般小麦籽粒中蛋白质含量虽较水稻高，但赖氨酸的含量却比水稻低，故在培育高产早熟粮食品种时，既要提高其蛋白质含量，也要注意提高谷物蛋白质中必需氨基酸的含量。目前世界各国正在大量开展用杂交、理化因素诱变工作以培育优良新品种，如培育的玉米"奥帕柯-2"(Opaque-2)突变型品种，使蛋白质含量从9.0%增加到11.6%，蛋白质中的赖氨酸量从3%增加到4.8%，色氨酸从0.7%增加到1.3%，提高了玉米的营养价值。

分析我国各种谷物的不同品种中蛋白质以及这些谷物蛋白质中赖氨酸的含量，知道每一种谷物的品种之间质量上差别很大，如不同小麦品种籽粒中蛋白质含量幅度在7.0～22%之间。这些谷物蛋白质中赖氨酸为2.2～4.2%。水稻各品种籽粒中蛋白质含量的幅度在7.4～12%，这些籽粒蛋白质中赖氨酸为3.12～4.48%。这说明培育优良的谷物品种确是大有潜力的。

氨基酸不仅是蛋白质的基本组成，而且对生物体还具有其他特殊的生理作用，参与许多代谢作用。目前有不少氨基酸或其衍生物已广泛应用于医药、食品和试剂等方面。如甘氨酸是体内合成磷酸肌酸、嘌呤、血红素等的成分，并能对芳香族物质起解毒作用。丝氨酸在合成嘌呤、胸腺嘧啶、甲硫氨酸和胆碱中供给碳链。酪氨酸为合成甲状腺素和肾上腺素的前体。精氨酸参与鸟氨酸循环，具有能促使血氨转变成尿素的作用，是专用于因血氨升高引起的肝昏迷药物。又如存在于脑组织中具有抑制中枢神经兴奋作用的γ-氨基丁酸，就是由谷氨酸经谷氨酸脱羧酶的脱羧作用而形成的，当γ-氨基丁酸含量降低时，可影响脑细胞代谢进而影响其机能活动。胆酸、胆碱、肾上腺素等物的甲基都是通过甲硫氨酸衍生物转化来的。色氨酸经脱氢脱羧作用形成的吲哚乙酸，是一种植物生长激素；又因烟酸是色氨酸分解的中间产物，故在营养上色氨酸可补充食物中烟酸的不足。赖氨酸能促进幼儿成长和发育，可用于提高食品的营养价值。谷氨酸钠已广泛用作调味品。因此强化食物，增加各种必需氨基酸，提高食品营养价值，对保证一些在特殊条件下工作人员的身体健康是十分重要的。甲基

甲硫氨酸在医药上称维生素 U，是种抗溃疡药物，用于胃、十二指肠溃疡等。此外在多肽激素如催产素、加压素、促肾上腺皮质激素的合成中都要用到氨基酸。

随着氨基酸用途不断扩大，氨基酸的生产也不断提高，目前氨基酸生产主要有三条途径：从蛋白质水解液中分离，仅宜于中小规模生产；从发酵法制取，可大规模生产；有机合成法。化学合成的氨基酸都是外消旋氨基酸，还需进一步用化学或生化方法分离才能制得 L-氨基酸。目前大都采用微生物发酵法。我国除谷氨酸已用发酵法大规模生产外，八种必需氨基酸的发酵生产也在进行中。

二、蛋白质的化学结构

蛋白质是由许多氨基酸按一定的排列顺序通过肽键相连而成的多肽链。蛋白质的肽链结构称为蛋白质的化学结构，它包括氨基酸组成、肽链数目、末端组成、氨基酸排列顺序和二硫键位置等内容。

1．肽键、肽链、二硫键

一个氨基酸的氨基可以与另一氨基酸的羧基缩合失去一分子水，形成酰胺键，这种氨基酸之间连接的酰胺键又称肽键。由二个氨基酸分子组成的肽称二肽，由三个氨基酸分子组成的称三肽，其余类推，一般由三个或三个以上氨基酸分子组成的肽称多肽。

根据各种化学的、生物的方法证明，蛋白质中氨基酸之间也是通过肽键（$-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-\overset{\overset{H}{|}}{N}-$）相连的，肽键是蛋白质中基本的化学键。由于蛋白质由许多氨基酸通过肽键相连而成的多肽象链一样，又称肽链结构。

蛋白质分子内的肽键有特殊的双缩脲反应。即当在蛋白质溶液中加入碱性硫酸铜试剂，便有明显的紫红色出现，这紫红色物就是含肽键的化合物与两价铜离子结合生成的复合物。由二分子尿素加热后形成的双缩脲（$H_2NCONHCONH_2$）有此反应，故名之。一般凡具有二个以上肽键的化合物都有此反应。由于蛋白质分子中含有很多肽键，因此有强烈的双缩脲反应。通常可用此反应来定性鉴定蛋白质，并根据反应产生的颜色在540毫微米处比色，可定量测定蛋白质。

在蛋白质水解的过程中，肽键不断断裂，双缩脲反应则随之减弱，当蛋白质完全水解成氨基酸时，双缩脲反应也就消失。因此这反应也是常用来鉴定蛋白质水解是否完全的一种简便方法。

下面为蛋白质中的一段多肽链的模式结构，表示氨基酸之间的肽键。

$$\underset{\underset{R_1}{|}}{H_2NCHCO}-\underset{\underset{R_2}{|}}{NHCHCO}-\underset{\underset{R_3}{|}}{NHCHCO}-\underset{\underset{R_4}{|}}{NHCHCO}-\underset{\underset{R_5}{|}}{NHCHCO}-\underset{\underset{R_6}{|}}{NHCHCO}\cdots\cdots\underset{\underset{R_x}{|}}{NHCHCOOH}$$

从这模式结构可以看到蛋白质中的肽键都是通过 α-氨基和 α-羧基脱水缩合而成的。肽链中的氨基酸称为氨基酸残基。肽链上的 $R_1R_2R_3\cdots$ 代表各氨基酸残基的侧链，上有很多基团，如羟基、巯基、γ-羧基、ε-氨基等等，它们对维持蛋白质分子的立体结构和行使蛋白质的功能都有重要关系。

通常写多肽或蛋白质肽链结构时，总是把含游离 α-NH_2 的氨基酸一端写在左边，这游

离 α-氨基称为 N 端，用"H"表示；把含游离 α-COOH 的氨基酸一端写在右边，称为 C 端，用"OH"表示。

蛋白质分子并不都是这样简单的一条肽链，而有的还有分枝或成环状，也可以是由一条以上肽链组成的。因为在肽链中除肽键外还有二硫键，它是通过两个半胱氨酸脱氢连接而成的(图 4-4A)，是连接肽链内和肽链之间的主要桥键。因此能在同一条肽链上形成小环而使肽链卷曲，或者在二条肽链之间形成桥梁(图 4-4B、C)。二硫键在蛋白质分子中起着稳定肽链空间结构的作用，往往与生物活力有关。当二硫键破坏后，蛋白质或多肽的生物活力就消失，如胰岛素分子和核糖核酸酶分子中的二硫键切断后，活力就丧失，说明它们的生物活力都与二硫键有关。一般二硫键数目愈多，蛋白质结构的稳定性也强。生物体内起保护作用的皮、角、毛、发的蛋白质中二硫键最多。

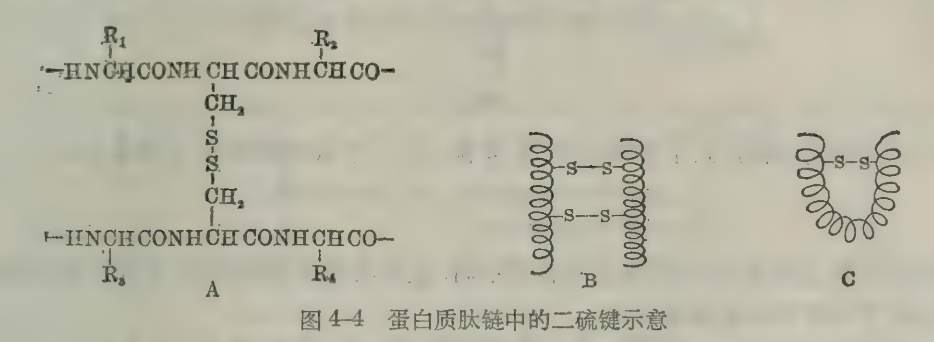


图 4-4　蛋白质肽链中的二硫键示意

2. 几种常见的多肽化合物

在生物体内有一些具有特殊功能的多肽。

(1) 谷胱甘肽　是存在于动植物和微生物细胞中的一个很重要的三肽，简称 GSH，是由谷氨酸、半胱氨酸、甘氨酸组成的。它的分子中有一个特殊的 γ-肽键，就是由谷氨酸的 γ-COOH 与半胱氨酸的 α-NH_2 缩合而成的肽键，显然这与蛋白质分子中的肽键不同。

$$\begin{array}{c} \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad SH \\ \qquad\qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ \quad COOH \qquad\qquad\qquad CH_2 \\ \quad | \qquad\qquad\qquad\qquad\quad | \\ H_2NCHCH_2CH_2CO{-}NHCHCO{-}NHCH_2COOH \end{array}$$

还原型谷胱甘肽

由于 GSH 中含有一个活泼的巯基，易被氧化，二分子 GSH 脱氢以二硫键相连成氧化型的谷胱甘肽 (GSSG)。

$$2GSH \underset{+2H}{\overset{-2H}{\rightleftharpoons}} GSSG$$

谷胱甘肽参与细胞内的氧化还原作用，是某些酶的辅酶，并对一些巯基酶有激活作用。目前主要从酵母中提取。临床用于解毒药，也可用于抗辐射和治疗肝病。

(2) 具激素功能的多肽　有很多多肽化合物具有激素功能，在人体和高等动物中起着调节控制新陈代谢的作用。

1) 催产素和加压素：是由高等动物下丘脑某些特殊化了的神经细胞所分泌并贮存在脑下垂体后叶的多肽激素，都是八肽。催产素能促使子宫和乳腺平滑肌收缩，临床用于引产和减少产后出血。它的简式和化学结构如下：

```
Cys·Tyr·Ile·Gln·Asn·Cys·Pro·Leu·Gly—NH2
|_______S_______S_______|

                              C6H4OH          C2H5
                              |               |
         NH2  O               CH2  O          CH—CH3
         |    ‖               |    ‖          |
CH2—CH—C—NH—CH—C—NH—CH
|                                             |
S                                             C=O
|                                             |
S                    O                  O     NH
|                    ‖                  ‖     |
CH2—CH—NH—C—CH—NH—C—CH—(CH2)2—CONH2
         |               |
         C=O             CH2
         |               |
         |               CONH2
CH2—N                 O                   O
|      \              ‖                   ‖
|       CH—C—NH—CH—C—NH—CH2—CONH2
|      /                  |
CH2—CH2                   CH2
                          |
                          CH(CH3)2
```

加压素的结构与催产素十分相近，仅 3，8 位上的二个氨基酸相差，它的简式如下：

```
Cys·Tyr·Phe·Gln·Asn·Cys·Pro·Lys·Gly-NH2
|_______S_______S_______|
```

由于二个氨基酸不同，其生理功能也就不同，主要具有抗利尿作用，也有收缩毛细管作用。临床用于治疗尿崩症和肺咯血。

2）下丘脑激素：为一类由下丘脑神经纤维细胞分泌的激素，目前已经知道的有 7 种下丘脑释放激素和三种抑制激素，它们都是分子量小的多肽，并仅以十亿分之一克（即毫微克）的量存在于下丘脑中，是调节和控制脑下垂体激素的枢纽。我国已合成了其中的促甲状腺素释放激素和促黄体生成素释放激素及其类似物。

促甲状腺素释放激素（TRH）的生理功能是促进垂体前叶释放促甲状腺素，从而控制甲状腺分泌甲状腺素。它的结构为一个三肽，简式如下：

Pyro·Glu·His·Pro-NH_2

TRH 没有种属特异性，临床主要用于原发性甲状腺功能低下症和诊断促甲状腺素缺乏的病因。

促黄体生成激素释放激素（LRH）的生理功能是控制垂体的黄体生成激素和促卵泡成熟激素的分泌作用，再通过这二种激素起调节性腺的功能。它的结构为一个十肽。简式如下：

Pyro·Glu·His·Trp·Ser·Tyr·Gly·Leu·Arg·Pro·Gly-NH_2

LRH 是一个含有六个功能团氨基酸的十肽，分子中不含自由氨基和羧基，第 1 位氨基酸为焦谷氨酸，第 10 位为甘氨酰胺，这种特殊的结构是和它具有高度活性密切有关。目前临床已用于各种闭经的诊断治疗，用于下丘脑-垂体系统机能缺陷的不育症，起诱发排卵和调节经期等功能。此外在家鱼催产和家畜家禽繁殖方面也具有一定作用。

3．胰岛素的化学结构

胰岛素是由动物胰脏中胰岛细胞分泌的一种分子量较小的激素蛋白，它的主要功能是促进糖元（动物淀粉）的生成和加速葡萄糖氧化，从而降低体内血糖含量。当胰岛素分泌不足时，组织中糖的利用发生障碍，肝糖元分解加速，血糖升高并从尿中排出，形成糖尿病。胰

岛素在临床上主要用来治疗糖尿病。从1926年Abel首次获得胰岛素以来，胰岛素已成为研究得最多的蛋白激素之一。

胰岛素是第一个被阐明化学结构的蛋白质。1955年Sanger等人用酶和化学方法，成功地揭示了牛胰岛素的全部化学结构。胰岛素由五十一个氨基酸组成，分子量为5734，由二条肽链组成，一条叫A链，一条叫B链。A链是由二十一个氨基酸组成的二十一肽，B链是由三十个氨基酸组成的三十肽。A链和B链之间通过两对二硫键把两条链连起来。另外A链本身6位和11位上的二个半胱氨酸通过二硫键相连形成链内小环。A链和B链都是由一定的氨基酸按照特定的排列顺序组成的。图4-5为牛胰岛素的化学结构。这样一个由51个氨基酸组成的分子量为5734的胰岛素分子称为一个单体(或亚基)，通常情况下胰岛素以二聚体形式存在(由二个亚基组成)。在锌胰岛素晶体中，通过两个Zn^{++}的配价作用，形成六聚体结构，在显微镜下可看到呈正方形或扁斜方形的六面体结晶。

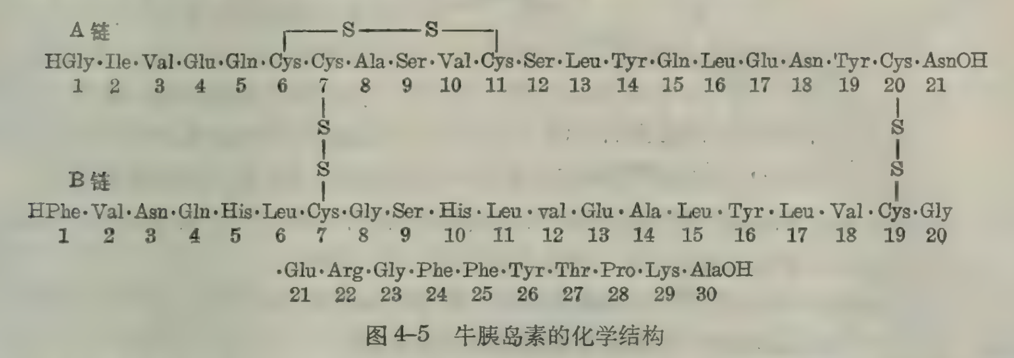


图4-5 牛胰岛素的化学结构

从牛胰岛素的化学结构可以看出，A链和B链都是由一定的氨基酸按照特定的排列顺序组成的，这种关于蛋白质肽链的氨基酸排列顺序，通常称为蛋白质的一级结构或初级结构。

蛋白质中氨基酸的排列顺序是十分重要的，它对整个蛋白质分子的性能起着决定的作用。每种蛋白质的氨基酸都有一定的排列顺序，决不是随机杂乱无章的。一般来说氨基酸的排列顺序是不能轻易改变的，有的蛋白质分子只有一个氨基酸的改变就有可能改变整个蛋白质分子的性能，造成生物功能的巨大改变。如胰岛素A链的A_1的Gly与A_2的Ile互相对调一下或去掉A_{21}的Asn，都会使胰岛素的生物活力降低或丧失。当然在蛋白质分子中并非所有氨基酸都不能作任何改变，如胰岛素B链的B_{30}的Ala去掉后，并不影响它的生物活力。

由于蛋白质分子量大，氨基酸种类又多，若任意排列，没有一定规律，那末20种氨基酸作任意排列组合可以构成不同异构体的数目是十分惊人的。假定一个由100个氨基酸以任意排列组合聚合起来的单链蛋白质，得到的蛋白质品种可达20^{100}，何况从目前已研究清楚化学结构的蛋白质来看，所含的氨基酸数目一般都在100个以上。但这样的天文数字仅是可能性，实际上目前估计生物体内的蛋白质总数远没有这样大的数目。因此蛋白质分子中氨基酸的有规律的排列，正是生物长期演化的结果，在几十亿年的进化过程中，由于机体与环境、结构与功能之间的不断矛盾斗争，排除了大量“不起作用”的结构，留用了若干种能相对表达生物功能所需，并适应一定环境的排列顺序。当然自然界总是在不断变化发展的，因此生物体内蛋白质的结构也将随之发展变化，决不会停留在一个水平上。

以后又发现胰岛素的前体是胰岛素原，在血液和胰岛细胞中存在，但不具生理活性。如猪(牛)的胰岛素原是由 84 个氨基酸组成的一条卷曲状多肽链(图 4-6)，就是在胰岛素上多了一段由 33 个氨基酸残基组成的 C 链，一端与 A 链的 N 端相连，一端与 B 链的 C 端相连。在 C 链与 B 链连接处有二个碱性氨基酸(Arg、Arg)，与 A 链连接处有二个碱性氨基酸，经体内两个专一性的水解酶作用下，将 31 和 32 位的 Arg 以及 62 和 63 位的 Lys、Arg 四个残基切去，这样，切去 C 链后胰岛素原就转变成具有活性的由二条肽链组成的胰岛素。1974 年后又进一步发现生物体最初形成的不是胰岛素原，而是分子量更大的前胰岛素原。

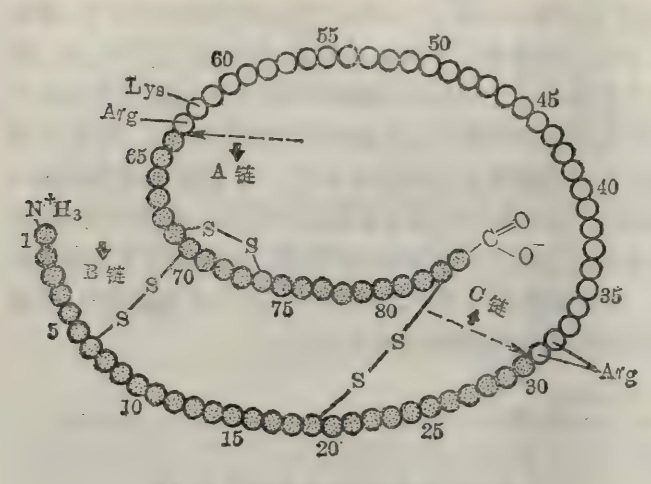


图 4-6　牛胰岛素原的化学结构示意

○ 为C链部分，　◎ 为胰岛素部分

从上述胰岛素分子结构，可知蛋白质一级结构就是由许多氨基酸按照一定的排列顺序通过肽键相连而成的多肽链结构，每一种蛋白质肽链的氨基酸都有一定的排列顺序。蛋白质的一级结构是最基本的，它包含着决定蛋白质高级结构的因素。近年来，蛋白质化学的进展很快，已有上千种蛋白质分子的氨基酸排列顺序全部清楚。

4. 蛋白质一级结构测定

蛋白质的一级结构测定就是氨基酸排列顺序测定。主要内容是应用二种以上专一性水解方法，分别将肽链切断，各自得到一系列大小不同的肽段，然后将这些肽段分离纯化，测定它们的氨基酸排列顺序，得到的两套肽片的氨基酸排列顺序拼揍起来，就可得到该蛋白质肽链的一级结构即全部氨基酸排列顺序。

(1) 测定步骤　蛋白质一级结构测定，步骤虽繁多，但方法并不复杂。一般包括以下几步：

1) 提纯蛋白质样品。

2) 测定分子量和氨基酸组成。

3) 氨基酸末端分析，测出肽链的 N 末端和 C 末端的氨基酸。

4) 拆开二硫键，获得伸展的肽链。如果有几条链，则需进一步分离这些肽链。

5) 应用化学的或酶的方法，将肽链进行专一性的部分水解，获得分子大小不等的一系列肽段。

6) 分离提纯这些肽段，并测定各个肽段的氨基酸排列顺序，对一些大肽段，还要进一步采用二种以上部分水解法，得到几套小肽段，分别测得氨基酸排列顺序，最后把所得结果拼揍联结起来，就可推出大肽段的全部氨基酸排列顺序。

(2) 常用的测定方法

1) 肽链折开及伸展：由于二硫键的作用，可以使几条肽链相连，使单链卷曲或成环状。进行蛋白质一级结构分析时，往往需要将二硫键打开，使肽链分开和伸展。为了拆开二硫键，通常采用过甲酸氧化剂，使胱氨酸部分氧化成二个半胱氨磺酸。如胰岛素经氧化后得到

A 链和 B 链的磺酸衍生物。

$$
\begin{array}{c}
\text{H} \\
\cdots\text{HN}-\text{C}-\text{CO}\cdots \\
| \\
\text{CH}_2 \\
| \\
\text{S} \\
| \\
\text{S} \\
| \\
\text{CH}_2 \\
| \\
\cdots\text{HN}-\text{C}-\text{CO}\cdots \\
\text{H}
\end{array}
\xrightarrow{\text{HCOOOH}}
\begin{array}{c}
\text{H} \\
\cdots\text{HN}-\text{C}-\text{CO}\cdots \\
| \\
\text{CH}_2 \\
| \\
\text{SO}_3\text{H} \\
\\
\text{SO}_3\text{H} \\
| \\
\text{CH}_2 \\
| \\
\cdots\text{HN}-\text{C}-\text{CO}\cdots \\
\text{H}
\end{array}
$$

也可用还原法，用过量的巯基化合物，如巯基乙酸、巯基乙醇或半胱氨酸等，可以使二硫键切断而还原为相应的巯基化合物。

$$
\underset{\text{蛋白质}}{R_1-S-S-R_2} + \underset{\text{巯基化合物}}{R_3SH} \longrightarrow R_1-SH + R_2-SH + R_3-S-S-R_3
$$

当二硫键在二条肽链之间，则拆开二硫键后蛋白质的分子量有显著改变。如二硫键相连在同一条链的不同部位，则拆开二硫键后仅使肽链伸展而分子量并不改变。因此在分析蛋白质初级结构，确定二硫键位置和肽链形状时，拆开二硫键的方法是很重要的。

2）肽链的部分水解方法：长的肽链不易测定氨基酸排列顺序，必须先将肽链部分水解为小的肽段。部分水解法通常采用各种蛋白酶，在专一的肽键处切开肽链，或用化学方法进行部分水解。

由于各种蛋白酶对蛋白质水解的专一性不同，因此当用两种专一性不同的蛋白酶去水解某一种蛋白质时，就可得到二组不同的肽段碎片。通常用来进行蛋白质部分水解的蛋白酶有胰蛋白酶（又称胰酶）和胰凝乳蛋白酶（又称胰糜蛋白酶）。胰蛋白酶专一性最强，只水解赖氨酸、精氨酸羧基形成的肽键，胰凝乳蛋白酶则主要能专一性地水解芳香族氨基酸形成的肽键，此外对色氨酸形成的肽键也有水解作用。而梭状芽孢杆菌蛋白酶专一性很强，几乎只能水解精氨酸羧基形成的肽键。此外还有胃蛋白酶、木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶以及某些微生物蛋白酶如嗜热菌蛋白酶等也都可用于蛋白质的部分水解。当蛋白质经某些专一性强的蛋白酶水解后，所得的肽段仍然很大，往往还须用其他专一性差的酶（如枯草杆菌蛋白酶专一性差，能水解很多氨基酸的肽键）或稀酸法作进一步水解使成小肽，才能测定氨基酸排列顺序。

用化学法对蛋白质进行部分水解，方法有多种，其中以溴化氰法最为理想。它能与蛋白质中甲硫氨酸起专一性反应，反应物经轻微水解后，便环化成高丝氨酸内酯，并释放出新的 N-末端。由于甲硫氨酸在蛋白质中含量通常很少，被切断的肽键也少，因此这种部分水解方法是目前比较理想而应用较多的。反应式如下：

$$
\begin{array}{l}
\text{肽链}\cdots-\underset{\text{H}}{\text{N}}-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}\cdots\text{肽链} \\
\qquad\qquad | \\
\qquad\qquad \text{CH}_2 \\
\qquad\qquad\quad \backslash \text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3
\end{array}
\xrightarrow{\text{CNBr}}
\begin{array}{l}
\text{肽链}-\cdots\underset{\text{H}}{\text{N}}-\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}\cdots\text{肽链} \\
\qquad\qquad | \\
\qquad\qquad \text{CH}_2 \\
\qquad\qquad\quad \backslash \text{CH}_2-\overset{\oplus}{\underset{\text{CN}}{\text{S}}}-\text{CH}_3\text{Br}^{\ominus}
\end{array}
$$

$$
\xrightarrow[-\text{CH}_3\text{SCN}]{}
\begin{array}{l}
\qquad\qquad\qquad\quad \text{Br}^{\ominus} \\
\text{肽链}-\underset{\text{H}}{\text{N}}-\text{CH}-\text{C}=\underset{\text{H}^{\oplus}}{\text{N}}\cdots\text{肽链} \\
\qquad\quad \text{CH}_2 \quad \text{O} \\
\qquad\qquad \backslash \text{C} / \\
\qquad\qquad\;\; \text{H}_2
\end{array}
\xrightarrow[(-\text{HBr})]{\text{H}_2\text{O}}
\begin{array}{l}
\text{肽链}\cdots\underset{\text{H}}{\text{N}}-\text{CH}-\text{C}=\text{O} \\
\qquad\quad \text{CH}_2 \quad \text{O} \\
\qquad\qquad \backslash \text{C} / \\
\qquad\qquad\;\; \text{H}_2
\end{array}
+ \text{H}_2\text{N}-\text{肽链}
$$

下面为几种常用的专一性水解肽链方法的示意:

$$
\begin{array}{c}
\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad\quad R_2 \\
-\overset{H}{N}-\underset{R_1}{\overset{H}{C}}-\underset{O}{\overset{}{\overset{\downarrow}{C}}}-\overset{H}{N}-\underset{H}{\overset{|}{C}}-\underset{O}{C}-\text{肽链}
\end{array}
$$

氨基酸1　　氨基酸2

方　　法	被切断的肽键位置
胰蛋白酶	氨基酸1=Lys 或 Arg
胰凝乳蛋白酶	氨基酸1=Phe、Trp 或 Tyr
胃　　酶	氨基酸1=Phe、Trp、Tyr 和其他氨基酸
嗜热菌蛋白酶	氨基酸2=Leu、Ile 和 Val
溴化氰法	氨基酸1=Met

酸法水解是蛋白质部分水解最经典的方法。一般采用稀盐酸(如 0.03N HCl)在 105°C 下作用,水解专一性很差。

3) 末端分析法和肽的氨基酸顺序测定:分析蛋白质多肽的末端氨基酸有化学法和酶解法。常用来测定 N-末端的方法有三种:

二硝基氟苯法(即 FDNB 法):在 pH 8.0~9.0 条件下,2,4-二硝基氟苯能与肽链上 N-末端氨基酸的游离氨基作用,生成二硝基苯衍生物(称 DNP-肽链),由于二硝基苯(DNP)基团与氨基结合牢固,不易为酸水解,因此当 DNP-肽链在酸水解时,所有的肽键被切开,而 DNP 基团仍连在 N-末端氨基酸上,形成黄色的 DNP-氨基酸。利用 DNP-氨基酸在有机溶剂中的溶解度与其他氨基酸不同,可以用乙醚把 DNP-氨基酸抽提出来,与其他氨基酸分开,所得 DNP-氨基酸经纸层析(或聚酰胺薄膜层析),从纸层析图谱上黄色斑点的位置可鉴定 N-末端氨基酸的种类和数目。黄色斑点可用 1% $NaHCO_3$ 液洗脱,在 360 毫微米处比色进行定量测定。反应式如下:

$$
O_2N-C_6H_3(NO_2)-F + H_2N\underset{}{\overset{R_1}{C}}HCONH\overset{R_2}{C}HCONH\overset{R_3}{C}HCONH\overset{R_4}{C}HCO\text{---}NH\overset{R_x}{C}HCOOH
$$

FDNB　　肽链

$$
\xrightarrow{\text{室温}\ pH\,8.0\sim9.0}
$$

$$
O_2N-C_6H_3(NO_2)-NH\overset{R_1}{C}HCO\,\vdots\,NH\overset{R_2}{C}HCO\,\vdots\,NH\overset{R_3}{C}HCO\,\vdots\,NH\overset{R_4}{C}HCO\text{---}\vdots\text{---}\vdots\text{---}NH\overset{R_x}{C}HCOOH + HF
$$

DNP-肽链(黄色)

$$
\xrightarrow{H^+\ \text{水解}}
$$

$$
O_2N-C_6H_3(NO_2)-NH\overset{R_1}{C}HCOOH + \text{各种氨基酸}
$$

DNP-氨基酸(黄色)

除 N-末端氨基外,肽链上的侧链如 ε-氨基、酚基、咪唑基也能与 FDNB 作用生成 DNP-衍生物,但它们的极性仍较强,不被乙醚所抽提。

苯异硫腈法(Edman 法):在弱碱条件下,苯异硫腈(PITC)能与蛋白质多肽链 N-末端的氨基作用,形成苯氨基硫甲酰衍生物(简称 PTC-蛋白或多肽)。去除过量试剂,在酸性溶液中 N-末端的 PTC-氨基酸环化得氨基酸苯乙内酰硫脲的衍生物(称 PTH-氨基酸),从蛋白肽链上断下。所得的 PTH-氨基酸经乙酸乙酯抽提后,用纸层析或薄层层析定性鉴定,确

定肽链的N-末端氨基酸种类，也可在265毫微米紫外光下比色定量。反应过程如下：

$$\underset{\text{PITC}}{C_6H_5-N=C=S} + H_2N\underset{R_1}{CH}CO-NH\underset{R_2}{CH}CONH\cdots CONH\underset{R_x}{CH}COOH$$

$$\downarrow 40°C\ \ pH\,8.7\sim 9.0$$

$$H_5C_6-\overset{H}{N}-\underset{\underset{S}{\|}}{C}-\overset{H}{N}-\underset{R_1}{CH}CO\,\vdots\,NH\underset{R_2}{CH}CONH\cdots CONH\underset{R_x}{CH}COOH$$

PTC-多肽

$$\downarrow H^+\ \ 40°C$$

PTH-氨基酸（H_5C_6-N、$C=S$、NH、$CH-R_1$、$C=O$ 构成的五元环） $+ H_2N\underset{R_2}{CH}CONH\cdots CONH\underset{R_x}{CH}COOH$

PTH-氨基酸　　剩余多肽

剩余的肽链可以继续重复应用这方法测定新产生的N-末端氨基酸即递减一位的氨基酸（称Edman逐步降解法）。如此重复多次就可测定出此多肽链N-端的氨基酸排列顺序。目前应用此法，在严格控制条件下，一次可连续测出60个以上氨基酸的顺序。

二甲基氨基萘磺酰氯法（简称DNS-Cl法）：DNS-Cl是一种荧光试剂，在pH 9～10条件下能与氨基酸的氨基作用生成DNS-氨基酸，这种DNS-氨基酸在紫外光（360 nm或280 nm）照射下能发生强烈的黄色荧光。同样条件下DNS-Cl能与蛋白质多肽链的N-末端氨基酸的游离氨基作用生成DNS-肽，所得DNS-肽用6*N* HCl在105℃下水解18小时，肽键被切断，而DNS基团由于与N-端的氨基结合很牢而得N-末端的DNS-氨基酸，在酸性条件下DNS-氨基酸很容易被乙酸乙酯抽提出来，然后用电泳或层析法定性鉴定N-末端氨基酸种类。

$$\underset{\text{DNS-Cl}}{(CH_3)_2N-C_{10}H_6-SO_2Cl} + H_2N\underset{R_1}{CH}CONH\underset{R_2}{CH}CO\cdots NH\underset{R_x}{CH}COOH$$

$$\downarrow OH^-\ \ pH\,9\sim 10$$

$$\underset{\text{DNS-肽}}{(CH_3)_2N-C_{10}H_6-SO_2NH\underset{R_1}{CH}CONH\underset{R_2}{CH}CO\cdots NH\underset{R_x}{CH}COOH} \xrightarrow[H_2O]{H^+} \underset{\text{DNS-氨基酸}}{(CH_3)_2N-C_{10}H_6-SO_2NH\underset{R_1}{CH}COOH} + \text{肽链水解物}$$

应用聚酰胺（尼龙）薄膜层析鉴定DNS-氨基酸，微量、快速、简便。根据荧光斑点的位置，可直接确定N-末端氨基酸。目前，DNS-Cl法也是氨基酸分析中常用的方法。

把Edman逐级降解法与DNS末端法结合起来，可用于肽的氨基酸排列顺序测定，一个五或六肽，只需20～25 mμM样品便可测定。

测定蛋白质或多肽C-末端氨基酸的方法可采用羧肽酶法。羧肽酶能专一性地水解肽链C-末端氨基酸的肽键，在pH 8.0条件下，多肽或蛋白质被羧肽酶作用，在不同时间内先后从C-末端切断肽键逐个放出氨基酸，因此可间隔一定时间取样分析，用层析法测定放出的氨基酸。根据各氨基酸放出的先后和含量，就可推断出C-末端的氨基酸种类和氨基酸排列顺序，但是用羧肽酶一般只能测得3个或4个氨基酸的顺序。

4) 测定大肽段的氨基酸排列顺序：除了直接用Edman逐级降解法或羧肽酶法测定肽链中全部氨基酸排列顺序外，通常都用二种以上的部分水解法。例细胞色素c中一段10肽$_{21\sim30}$，经酸部分水解法和胰蛋白酶水解后，分离得到下面二套小肽，用上述方法测知这些小肽的氨基酸排列顺序，把所得结果排列起来，就可以推出这十肽的全部氨基酸排列顺序，如下所述：

胰蛋白酶水解产物：Glu·Lys　Gly·Gly·Lys　His·Lys　Thr·Gly·Pro

酸部分水解产物：Glu·Lys·Gly　His·Lys·Thr　Gly·Pro　Lys·Gly·Gly　Lys·His　Thr·Gly

十肽的氨基酸排列顺序：Glu·Lys·Gly·Gly·Lys·His·Lys·Thr·Gly·Pro

21　22　23　24　25　26　27　28　29　30

三、蛋白质和多肽的人工合成

1. 胰岛素人工合成及其意义

一百年以前，恩格斯就指出：只要把蛋白质的成分弄清楚之后，化学家就能着手创造出蛋白质来，恩格斯的光辉预言在我国得到了证实。1958年，我国科学工作者遵照毛主席的"解放思想，破除迷信"和"一定要在不远的将来，赶上和超过世界先进水平"的教导，克服种种困难，艰苦奋战，在1965年首先得到了在生物活力、结晶形状、免疫特性、层析和酶解图谱以及电泳行为等方面都和天然胰岛素相同的全合成结晶牛胰岛素，从而宣告人类第一次用人工方法合成蛋白质的成功，为我国科学事业攀登了世界高峰，有力地批判了形形式式的唯心主义，在人类认识生命奥秘的伟大历程中迈进了一大步。

我国合成胰岛素的工作首先解决了二硫键的折开再重合成(活力又恢复)问题，这是进行胰岛素合成中的关键。由于二硫键对维持胰岛素活性和空间构象具有十分重要的地位，只要折开三对二硫键中的任何一个，活性就完全丧失。这一关键的解决，为胰岛素的全合成打下了基础，并确定分别合成A链和B链，然后再将这二条链氧化成天然的具活性的胰岛素。

2. 多肽的人工合成

在多肽合成中，一般需要以下几个主要步骤：

(1) 氨基保护和羧基活化。

(2) 羧基保护和氨基活化。

(3) 接肽以及去除保护基团。

氨基保护剂目前应用最多的为苄氧羰酰氯(简称Cbzcl)，它能与氨基酸或肽上的游离氨基作用，形成苄氧羰酰氨基酸(Cbz-氨基酸)或Cbz-肽。当要去除这保护基时可用催化氢化法或钠氨法(用金属钠在液氨中处理)。此外还可用叔丁氧羰酰氯(Boc-Cl)作保护剂，用稀盐酸或乙酸在室温去除这保护基。

羧基保护通常用无水乙醇或甲醇等在 HCl 存在下进行酯化，使羧基接上烷基($-C_2H_5$ 或 $-CH_3$)，这些保护基可以在常温下用 NaOH 皂化法除去。

有些氨基酸除了含氨基和羧基外，还有其他的功能基团，在合成肽时，也都要用适当的保护基团加以保护。如组氨酸的咪唑基、丝氨酸的羟基、酪氨酸的酚基、半胱氨酸的巯基可用苄基(-BZ)保护，用钠氨法去除。谷氨酸和天冬氨酸的 β-及 γ-羧基可用 β-及 γ-苯甲酯保护，用催化氢化法去除。精氨酸的胍基可用对甲苯磺酰基(Tos-)保护。

多肽合成的方法很多，其中较普遍的是应用 N, N-二环己基羰酰亚胺(简称 DCCI)作缩合剂的方法(称 DCCI 法)，它和氨基及羧基已分别保护的二个氨基酸(或小肽)作用，脱水缩合生成肽，副产品 N, N-二环己脲(DCU)沉淀出来，使合成的肽很易分离出来。

下面以合成胰岛素 B 链中的一个二肽——苯丙氨酰缬氨酸(Phe·Val)为例，介绍合成肽的简要过程：

1) 为合成 Phe·Val 二肽，首先必须制取 Cbz-苯丙氨酸和缬氨酸甲酯(Val·OCH_3)。

2) 然后将 Cbz·Phe 和 Val·OCH_3 一起溶解于四氢呋喃溶剂中，加入 DCCI 作缩合剂，在室温下便可以很顺利地作用，使二者脱水缩合成苄氧羰酰苯丙氨酰缬氨酸甲酯(Cbz-Phe·Val·OCH_3)。过滤去除 DCU 沉淀。

3) 用催化氢化法脱去苄氧羰酰基和用皂化法去甲酯，就可得到苯丙氨酰缬氨酸(Phe·Val)二肽。化学反应简述如下：

$C_6H_5-CH_2OC(=O)Cl$ (CbzCl) + $C_6H_5-CH_2CH(NH_2)COOH$ (Phe) $\xrightarrow{OH^-}$ $C_6H_5-CH_2OC(=O)-NHCH(CH_2C_6H_5)COOH$ (Cbz-Phe)

$(CH_3)_2CHCH(NH_2)COOH$ (Val) + CH_3OH $\xrightarrow{HCl}$ $(CH_3)_2CHCH(NH_2)COOCH_3$ (Val·OCH_3)

Cbz-Phe + Val·OCH_3 $\xrightarrow{C_6H_{11}-N{=}C{=}N-C_6H_{11}\ (DCCI)}$ $C_6H_5-CH_2OC(=O)-NHCH(CH_2C_6H_5)CO-NHCH(CH(CH_3)_2)COOCH_3$ (Cbz-Phe·Val·OCH_3) + $C_6H_{11}-NH-C(=O)-NH-C_6H_{11}$ DCU(N、N-二环己脲)

Cbz-Phe·Val·OCH_3 $\xrightarrow{NaOH\ 皂化}$ $C_6H_5-CH_2OC(=O)-NHCH(CH_2C_6H_5)CO-NHCH(CH(CH_3)_2)COOH$ (Cbz-Phe·Val) $\xrightarrow[[Pt]]{H_2}$ $H_2NCH(CH_2C_6H_5)CO-NHCH(CH(CH_3)_2)COOH$ (Phe·Val二肽)

继我国 1965 年全合成牛胰岛素后，1969 年又有人相继用这些方法合成了由 124 个氨基酸组成的核糖核酸酶。

3. 固相法合成多肽

近年来发展起来的固相法合成蛋白质多肽在技术上是个重要进展，我国医药工业上已经应用．如催产素、LRH 就是用固相法合成的，不仅产量高，而且产品比天然产品纯度高。多肽链的固相合成不是在溶液里进行，而是以聚苯乙烯树脂为固相支持物，先把要合成的肽链的 C 端的第一个氨基酸以共价键联结在这固相支持物上，然后按肽链一级结构的顺序将氨基端保护的氨基酸逐个递加上去，使肽链延长。

简要过程如下：

(1) 先将氨基保护的 Boc-氨基酸$_1$(叔丁氧羰酰氨基酸)与氯甲基化的树脂反应，Boc-氨基酸$_1$ 通过苄酯键连接在树脂上，得到 Boc-氨基酸$_1$ 苄酯树脂，然后用 HCl-HAC 脱去 Boc-保护基，并用水和乙醇洗涤。

(2) 氨基酸$_1$ 苄酯树脂在 DCCI 缩合剂作用下，与 C-端第二个 Boc-氨基酸$_2$ 缩合，得到 Boc-二肽的苄酯树脂，并用水和乙醇交替洗涤，去除未反应的 Boc-氨基酸$_2$。这样按照肽链中氨基酸的排列顺序再依次重复脱去 Boc-，接肽，洗涤，使肽链逐步延长。

(3) 多肽链合成到最后一步时，将接有肽链的树脂悬浮在无水三氟乙酸中，通入干燥的溴化氢(或在甲醇中通入干氨，进行氨解)，使肽链从树脂上解离下来，同时也可把其他的保护基去掉，就可得到所合成的多肽。下面用图 4-7 表示：

$$(CH_3)_3C{-}O{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}NH{-}\overset{R_1}{\overset{|}{C}H}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O^- + Cl{-}CH_2{-}C_6H_4{-}\boxed{树脂}$$

Boc-氨基酸$_1$　　氯化苄酯树脂

↓

$$(CH_3)_3C{-}O{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}NH{-}\overset{R_1}{\overset{|}{C}H}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O{-}CH_2{-}C_6H_4{-}\boxed{树脂}$$

Boc-氨基酸$_1$ 苄酯树脂

↓ HCl-HAC

$$CH_3{-}\overset{CH_2}{\overset{\|}{C}}{-}CH_3 + CO_2 + H_2N{-}\overset{R_1}{\overset{|}{C}H}{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O{-}CH_2{-}C_6H_4{-}\boxed{树脂}$$

氨基酸$_1$ 苄酯树脂

Boc-氨基酸$_2$ ↓ DCCI

$$(CH_3)_3C{-}O{-}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}NH\overset{R_2}{\overset{|}{C}H}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}NH\overset{R_1}{\overset{|}{C}H}\overset{O}{\overset{\|}{C}}{-}O{-}CH_2{-}C_6H_4{-}\boxed{树脂}$$

Boc-二肽苄酯树脂

↓ $HBr-F_3CCOOH$

$$CH_3{-}\overset{CH_2}{\overset{\|}{C}}{-}CH_3 + CO_2 + H_2N\overset{R_2}{\overset{|}{C}H}CONH\overset{R_1}{\overset{|}{C}H}COOH + Br{-}CH_2{-}C_6H_4{-}\boxed{树脂}$$

异丁烯　　二 肽　　溴化苄酯树脂

图 4-7　固相法合成多肽的反应示意图

固相法比液相法操作大为简便，时间缩短，又便于自动化，1963 年 Merrifield 首次用固相法合成具有生物活力的九肽——运动徐缓素，只用了八天时间。但缺点是合成肽时的每一步反应不能保证全部进行，因而会引起有少数肽链缺失一个或几个氨基酸，使产品纯度不高，分离纯化带来困难。1969 年 Gutte 等人又用自动化固相法合成了由 124 个氨基酸组成的牛胰核糖核酸酶 A(牛胰 RNase A)。经纯化后为天然 RNase A 活力的 13%。其他还相继合成了由 42 个氨基酸组成的金黄色葡萄球菌的核酸酶片段，以及分泌素(27 肽)、降钙素(32 肽)等。

四、蛋白质的高级结构

1. 构象

分子内一些原子或基团之间相互的立体关系就是构象，它和构型一样都是立体化学的概念，但两者含义不同。构型(Configuration)只是指光学活性不对称的一种特定的立体结构，是一个分子中某一不对称碳原子上各取代基团或原子在空间的排列。而构象(Conformation)是指一个由几个碳原子组成的分子，因一些单键旋转而造成的不同碳原子上各取代基团或原子的空间排列。为区分二者，1969年国际纯粹和应用化学联合会认为：构型这类立体结构一定要有共价键的破坏，并形成一些新键，才能引起立体结构改变，从一种构型变为另一种构型分子，如氨基酸从D-型变成L-型。构象这类立体结构是不需要共价键的破坏，而是因为分子中一些单键旋转就能使立体结构改变的一类立体结构。构象通常又可称为三维结构或空间结构。

那末蛋白质多肽链的主链是否可能有无数的构象呢？事实并不如此，一个具生物活性的蛋白质多肽链在一定条件下往往只有一种或很少几种构象。这是由于蛋白质的肽键带有双键性质，不能自由旋转，因此形成 $\begin{matrix}H\\C_\alpha\end{matrix}\!\!>\!N-C\!\!<\!\!\begin{matrix}C_\alpha\\O\end{matrix}$ 一酰胺平面结构。而平面两侧的 C_α—N 和 C—C_α 键可以自由旋转，这样可把肽链的主链看成是由被 C_α 原子隔开的多个平面组成的。由于主链上有1/3是不能自由转动的肽键，使多肽链形成的构象数受到一定限制，加上肽键上很多侧链的影响，使肽链的构象数进一步受到限制。因此一个蛋白质分子因主链和侧链的相互影响，便只能形成一特定的构象。显然，这种特定构象是以一级结构为基础的。

研究蛋白质空间结构的技术方法很多，对纤维蛋白(如毛、发中的角蛋白，表皮中的胶原蛋白等)及晶体蛋白来说，主要是应用X-射线衍射法。此法是利用X-射线通过结晶状物时产生衍射，形成复杂的衍射图，把衍射图象记录下来，再经过复杂的数学推导和计算，来推知晶体中原子的分布和分子的空间结构。应用此技术，可间接"看到"蛋白质分子的空间结构。至于对溶液中的蛋白质分子，一般应用氢同位素交换法、圆二色性法、紫外差吸收法、萤光法以及核磁共振等物理化学方法，也只能获得一个大致的了解。

2. 次级键

蛋白质分子的一级结构是由共价键形成的，如肽键和二硫键都属共价键，键能较大，约几十至一百千卡。稳定性也较强。而蛋白质肽链在空间能维持一定的构象不变，主要是由于在蛋白质分子的主链和侧链上包含着众多的极性、非极性以及离子基团，能相互作用形成各种次级键，如氢键、疏水键、盐键等。在次级键(主要是氢键)作用下，蛋白质形成一定的构象。次级键的键能，除盐键的键能与共价键相近外，其他的都小于10千卡，所以稳定性较差。但由于它们在蛋白质分子中为数众多，因此对维持蛋白质分子的空间结构起着极为重要的作用。

氢键是由一个极性很强的X-H基上的氢原子与另一个电负性强的原子Y-(如O、N、F等)相互作用形成的一种吸引力，本质上仍属弱的静电吸引作用，氢键的表示如下：X—H···Y—。X和Y是电负性强的原子，X与H间是化学键，H与Y间是氢键，X是质子供体，Y是质子受体。由于蛋白质肽链上有很多 >NH(亚氨基)、>C=O(羰基)和—OH

(羟基)等，在二条肽链之间或同一条肽链相隔一定距离的羰基和亚氨基之间可以形成氢键(如图 4-8)。由于蛋白质上含有大量这类基团，故可形成大量氢键，它对于维持肽链空间结构和保持蛋白质的稳定性起着极其重要作用。

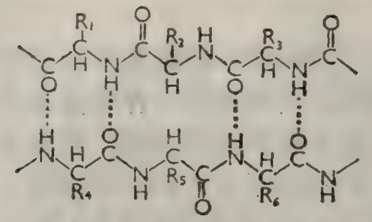


图 4-8 肽链之间形成的氢键

至于疏水键是由非极性侧链基团互相接近而成的一种力，如 Val、Leu、Ile、Phe、Trp 等氨基酸的侧链基团具有疏水性，在水溶液中能避开水相而在分子内部形成疏水区。盐键是由蛋白质中正、负电荷的侧链基团互相接近，通过静电吸引所形成，如羧基和氨基、胍基、咪唑基等基团之间的作用力。

各种天然蛋白质按其空间结构不同可分为纤维状蛋白和球状蛋白两大类：纤维状蛋白中肽链无限延伸，没有明确的分子界限，分子极不对称，呈极细的纤维状，溶解性能差，在生物体内具有保护、支持、结缔的功能，如毛发中的角蛋白、血纤维蛋白、肌纤维蛋白、胶原蛋白等。绝大部分蛋白质都属于球状蛋白，呈球形或椭圆形，如血红蛋白、清蛋白、球蛋白、肌红蛋白及许多酶蛋白、激素蛋白等。

3．主链的基本结构单元

蛋白质肽链的主链在空间卷曲的几种基本结构单元(主要是 α-螺旋和 β-折迭)，都是从研究纤维蛋白而取得的。这几种结构单元的特征简述如下。

α-螺旋：根据羊毛、马鬃、猪毛、鸟毛等天然 α-角蛋白的 X-射线衍射图谱，1951 年 Pauling 等人提出了著名的 α-螺旋模型。在这模型中(图 4-9)，蛋白质肽链象螺旋样盘曲，这是因为肽链的主链上含有许多 $>$NH 和 $>$C=O，相互间可形成氢键。在 α-螺旋中，肽链象螺旋样盘曲，每隔 3.6 个氨基酸残基螺旋上升一圈，每圈之间距离为 5.44Å；每个氨基酸残基的垂直距离为 1.5Å；每隔 3 个氨基酸残基可形成一个氢键，即每个残基的 $>$NH 和它后面的第四个氨基酸残基上的 $>$C=O 之间形成氢键，使肽链呈 α-螺旋的结构。到目前为止在蛋白质肽链中只发现右手 α-螺旋，而没有发现有左手 α-螺旋存在。α-螺旋结构是蛋白质主链的一种典型结构方式，它不仅在羊毛等纤维状蛋白质中存在，而且在其他各种类型的晶态蛋白质分子中也都存在。

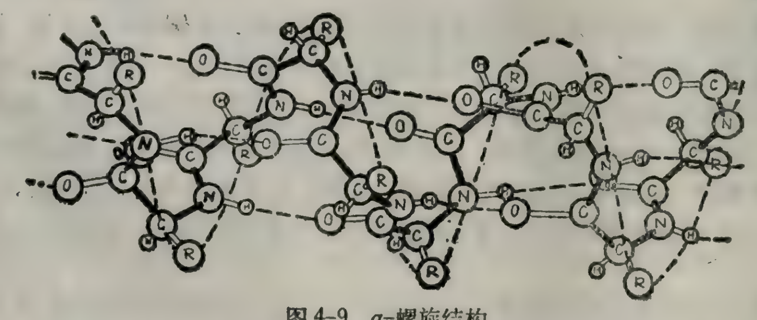


图 4-9 α-螺旋结构

β-折迭：是一种肽链相当伸展的结构，如图 4-10 所示。当我们将 α-角蛋白用热水和稀碱等方法处理后，α-角蛋白便转变为 β-型角蛋白，这时螺旋肽链被伸展，而形成 β-折迭的空间结构(图 4-10)。在这种结构模型中，肽链按层排列，在相邻的肽链之间形成氢键，得以

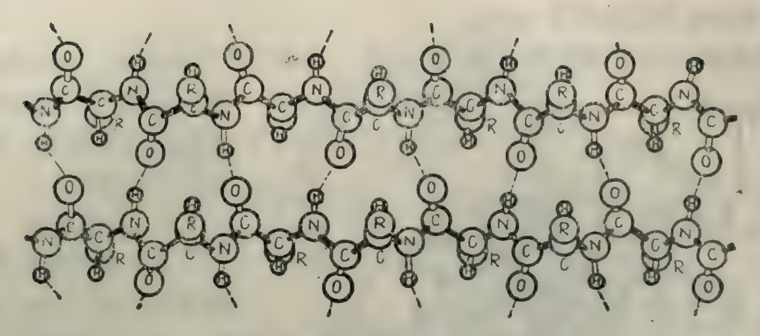


图 4-10 β-折迭结构(正平行式)

巩固这种结构。肽链的走向有正平行式和反平行式两种，正平行式即所有肽链的 N 末端都在同一端，如 β-角蛋白。反平行式即肽链的 N 末端一顺一倒地排列着，丝心蛋白属这一类型，从能量来看，反平行式更为稳定。β-折迭方式是蛋白质构象中经常存在的一种结构方式，在天然蛋白质变性时，往往就包含着 α 向 β 的转变。

α-螺旋以及 β-折迭是蛋白质构象的重要结构单元。它们主要是由主链上 >NH 和 >C=O 在肽链内或肽链之间形成氢键而构成的。

U 形转折：70 年代后，又发现在蛋白质分子的肽链中还经常会出现 180° 的回折，在这种肽链的回折角上，就是 U 形转折的结构，是近年来受人重视的一种构象结构单元，现在统称为 β-转角，也是由第一个氨基酸残基的 >C=O 与第四个残基的 >NH 之间形成氢键，这种结构单元有好几种类型。至于有些没有一定规律的肽链构象就叫做自由回转。

由于主链表现出各种构象，使侧链形成特定的侧链构象。各种侧链大小不同，侧链基团性质各异，有亲水性、有疏水性，因此基团之间相互作用，形成亲水区和疏水区。这样主链构象和侧链构象的相互作用，使肽链进一步在空间自身卷曲折迭，整个蛋白质分子形成很不规则的特定的构象。

4. 血红蛋白的高级结构

下面以血红蛋白为例来说明蛋白质的高级结构。血红蛋白的功能主要是运载氧和 CO_2。正常人血液中的血红蛋白(代号 Hb)是由 2 条 α-链(亚基)和 2 条 β-链组成，是一个含二种不同亚基的四聚体。每一个亚基含有一个血红素辅基，α-链由 141 个氨基酸组成，β-链由 146 个氨基酸组成，各自按照一定的排列顺序相连而成。α-链和 β-链在初级结构上虽差别较大，但在空间结构的卷曲折迭形式却大致相同。这二种亚基都有约 75% 的主链形成 α-螺旋结构，并进一步各自自身转折，形成一很不规则的构象。如 β-链的主链经好几个转折成八个肽段的 α-螺旋，在 N 端和 C 端附近以及各 α-螺旋肽段之间，都有长短不一的非螺旋松散链。β-链自身转折后，疏水侧链在分子内部，极性基团暴露在分子表面。图 4-11 为血红蛋白 β-链的空间结构。

血红蛋白的 4 条链(α、α、β、β)各自自身折迭，并在每条链的空隙间埋藏有一呈扁平形的血红素(铁卟啉)，血红素上的二价铁原子所具有的六个配位价，除四个与卟啉相连外，一个与肽链上的组氨酸侧链的咪唑基作用，另一个就能很自由地与氧分子可逆结合，形成氧合血红蛋白，这种氧合血红蛋白分子中血红素上的铁并未被氧化，在和氧结合前后均为 Fe^{2+}。

(血红蛋白中的血红素结构见图 4-21)。

这种各自折迭卷曲的四条链(α、α、β、β 链),再通过分子表面的一些次级键(主要是盐键和氢键)结合而联系在一起,互相凹凸相嵌排列,形成一个四聚体的功能单位。

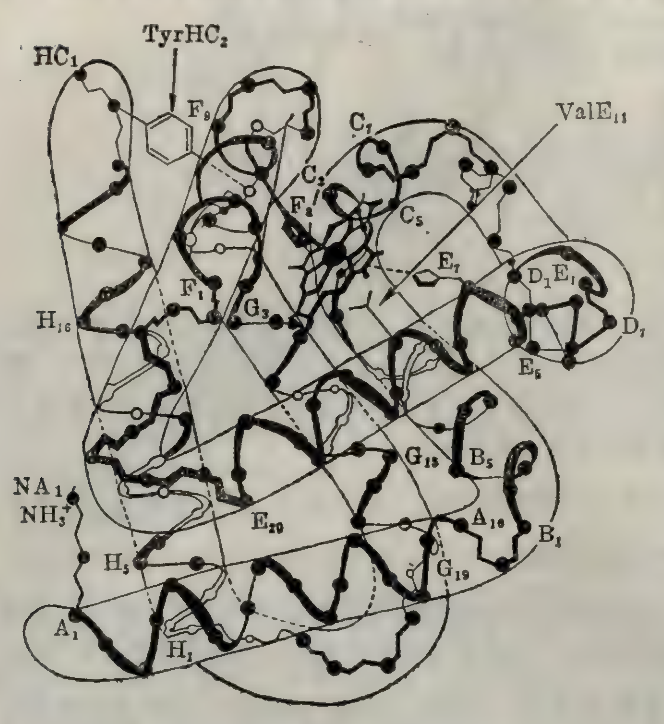


图 4-11 血红蛋白 β-链的空间结构

说明:全链共折迭成为八段 α-螺旋(从 A 到 H),用 NA 表示 N 端,用 HC 表示 C 端,F_8 和 E_7 为组氨酸的咪唑环,E_{11} 为缬氨酸的异丙基,HC_2 为酪氨酸的酚环

5. 几个术语

关于蛋白质的高级结构,还经常用二级、三级、四级结构等术语。所谓二级结构,是指肽链本身的盘曲方式,如 α-螺旋,β-折迭等。这样盘曲的肽链进一步卷曲折迭,构成一个很不规则的具有特定构象的蛋白质分子,这种关于 α-螺旋和 β-折迭等结构单元之间相互配置的构象称为三级结构。二级、三级结构统称空间结构,常用构象一词概括之。还有一些蛋白质分子,它们可以通过一些次级键共聚在一起或者有些蛋白质本身就是由几种或几个亚基聚合而成的。例如胰岛素具有解离聚合的性质。血红蛋白为二个 α 亚基和二个 β 亚基的聚合体。烟草花叶病毒的外壳蛋白则由 2130 个相同的亚基组成的。这种聚合体结构称为四级结构。

我国科学工作者在继人工合成胰岛素之后,又进一步应用 X-射线衍射法分析技术在分辨率为 1.8 Å 的水平上,测定了晶体胰岛素分子的精细空间结构。胰岛素晶体分子略象一个锥体,底面积直径约 20 Å,高约 23 Å,A 链紧缩在一起,被 B 链三面包围起来。B 链的 $B_9 \sim B_{19}$ 一段呈右旋螺旋构象,构成坚实的骨架,是使 B 链这条长链得以稳定的重要因素之一。A、B 二链之间的二硫键象两把锁,把 A、B 两链牢固地联结在一起(见图 4-12)。胰岛素分子上的非极性侧链基团在分子内部,形成一疏水区,它对稳定胰岛素分子的构象有重要作用,整个分子的全部极性侧链基团都分布在分子表面。在晶体中,胰岛素分子总是由二个分子彼此靠拢而形成二聚体形式,当有锌离子存在时,胰岛素分子又形成六聚体,每二个锌离子外面包围着六个胰岛素分子。

胰岛素晶体结构的研究,标帜着我国蛋白质空间结构的研究已进入世界先进行列,为今后研究胰岛素分子的结构与功能打下了基础。

当然蛋白质的空间结构并不是固定不变的,有些蛋白质当它表现其生物功能时,立体结构发生改变,从而改变了整个分子的性质,这种现象称为变构现象,是蛋白质表现其生物功能中的一种相当普遍而又十分重要的现象。如血红蛋白在表现其输氧功能时也有变构现象。

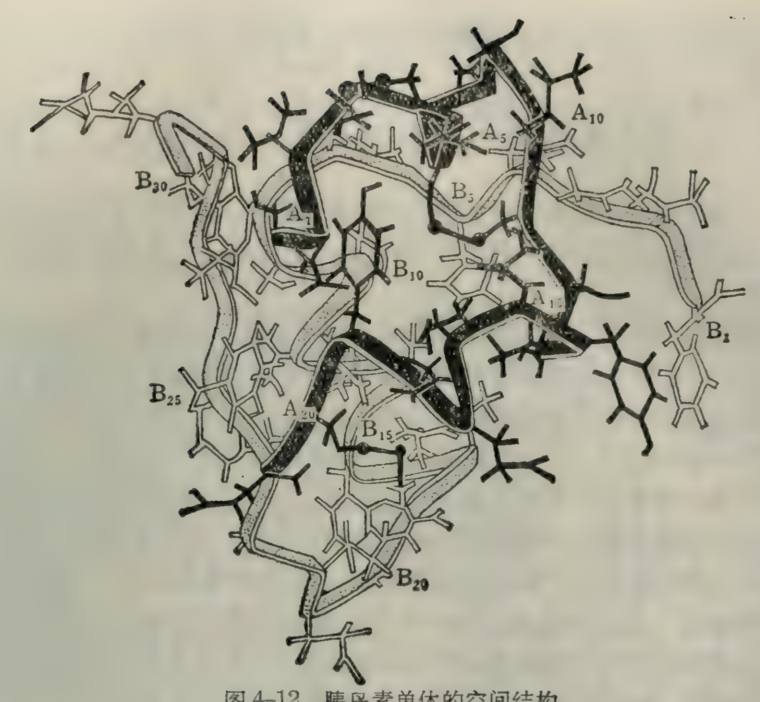


图 4-12 胰岛素单体的空间结构

第五节 蛋白质结构与功能的关系

研究蛋白质和核酸的结构和功能之间关系是从分子水平上认识生命现象的一项极为重要的任务，它不仅与生命起源、细胞分化、遗传、代谢控制等重大理论问题的解决密切有关，而且对工农业生产以及医学水平的提高，例如肿瘤和一些遗传病的病因和防治，病虫害的防治，模拟酶的应用等课题，都有着十分重大的意义。

蛋白质实现其生物功能的结构基础，从根本上来说是决定于它的初级结构，因此研究初级结构与功能关系是十分重要的。但随着蛋白质空间结构的阐明，研究空间结构与功能关系也正在逐步开展。蛋白质结构与功能的关系，包含着两方面的问题。第一，具有某种生物功能的蛋白质必须有怎样的结构基础，也就是各种蛋白质分子具有何种特定的结构来完成它特定的功能，在蛋白质肽链中有哪些部分或基团是必需的，哪些是不必需的。近二、三十年来由于蛋白质分析技术的迅速进展，通过对蛋白质初级结构的分析和比较，例如对不同生物来源的同功能蛋白质进行测定；对蛋白质侧链基团的化学改性作用，对高级结构受环境因素影响的了解等诸方面，已经取得不少有意义的结果。另一方面，对这样的蛋白质分子，在机体组织中是怎样和一定的生物结构相作用来实现它的功能，这一问题涉及面广，情况复杂。但近代生物化学的进展，已开始揭示其中的奥秘。例如蛋白质和生物膜的关系的研究就是一个活跃的方面。

研究蛋白质结构与功能关系的途径，可以通过分析比较不同来源的同功能蛋白质分子中初级结构的细微差异；也可以用化学的或酶的方法局部改变蛋白质的初级结构，以及观察生理过程中蛋白质初级结构的变化，研究这些差异变化与生物学功能改变的关系，并进一步改变其初级结构，合成具有生物功能的蛋白质多肽，或者用一定的结构去模拟某种功能。

下面结合一些典型例子概述结构与功能的研究和应用情况。

一、不同来源的同功能蛋白质在一级结构上的差异

从比较生化角度研究不同生物来源的同功能蛋白质在一级结构上的细微差异，可以帮助我们了解哪些氨基酸是生物活性所必需,哪些是不必需的。下面举例说明之。

1. 胰岛素

分析比较各种哺乳动物、鸟类和鱼类等动物胰岛素的一级结构，发现组成胰岛素分子的51个氨基酸中只有24个氨基酸是始终保持不变，为不同来源的胰岛素所共有的。例如其中的6个半胱氨酸残基的位置是属于始终不变的，这说明不同来源的胰岛素分子中A、B链之间都有共同的连接方式，三对二硫键对维持高级结构起着重要作用。其他一些不变的氨基酸绝大多数属非极性的带有疏水侧链的氨基酸，X-光晶体结构分析结果证明，这些非极性的氨基酸对维持胰岛素分子的高级结构起着稳定作用。从而可知不同动物来源的胰岛素，其空间结构可能大致相同。至于可变的部分，如从各种哺乳动物中分离出来的胰岛素，它们的化学结构仅在A链小环的8、9、10和B链30位的氨基酸残基有差别(表4-5),说明这4个氨基酸残基的改变并不影响胰岛素的生物活性，对生物活性并不起决定作用。同样属于哺乳动物的豚鼠,它的胰岛素化学结构与其他哺乳动物差别却很大，有17个氨基酸残基不同,因此它的生物活力也很低,相当于猪或牛胰岛素活力的8%左右。

表4-5　不同哺乳动物的胰岛素分子中的氨基酸差异

胰岛素来源	氨基酸排列顺序的差异			
	A_8	A_9	A_{10}	B_{30}
人	Thr	Ser	Ile	Thr
猪	Thr	Ser	Ile	Ala
牛	Ala	Ser	Val	Ala
狗	Thr	Ser	Ile	Ala
山羊	Ala	Gly	Val	Ala
马	Ala	Gly	Val	Ala
象	Thr	Gly	Val	Thr
抹香鲸	Thr	Ser	Ile	Ala
兔	Thr	Ser	Ile	Ser

对于这些可变动的氨基酸，一般认为不处于激素的"活性中心"或对维持"活性中心"不重要,只是与免疫性有关。我国生产的胰岛素是从猪胰中提取出来的,由于猪与人的胰岛素相比只有B_{30}的一个氨基酸不同(人的是苏氨酸,猪的是丙氨酸),因此用猪胰岛素治疗糖尿病,既不易引起胰岛素抗体的产生,而且效果也较好。

2. 细胞色素c

细胞色素c广泛存在于需氧生物细胞的线粒体中，是一种含有血红素辅基的单链蛋白质。在生物氧化时，细胞色素c在呼吸链的电子传递系统中起传递电子的作用,使血红素上铁原子的价数发生变化。

脊椎动物的细胞色素c由104个氨基酸组成,分子量约13,000左右。分析了从人类到

小麦共 30 多种不同生物来源的细胞色素 c 的一级结构，知道有 35 个氨基酸是各种生物共有不变的，其中 14 和 17 位的二个半胱氨酸，18 位的组氨酸和 80 位的甲硫氨酸以及 48 位酪氨酸和 59 位色氨酸都是不变的位置。据研究证明，这几个氨基酸正巧都是保证细胞色素 c 功能的关键部位。如血红素通过与蛋白质肽链第 14 和 17 位上两个半胱氨酸形成二个硫醚，将血红素共价连接在肽链上，这是它和其他含血红素的蛋白质不同之处，为唯一和血红素辅基共价结合的蛋白质。血红素另一端的一个丙酸基与肽链上第 48 位的酪氨酸和 59 位的色氨酸以氢键联系着。血红素上铁原子的六个配位价，除四个与卟啉环的四个氮原子以配位键相连外，另外二个就分别与 18 位组氨酸咪唑环的氮原子以及与 80 位甲硫氨酸的硫原子配位相连(见图 4-13)。

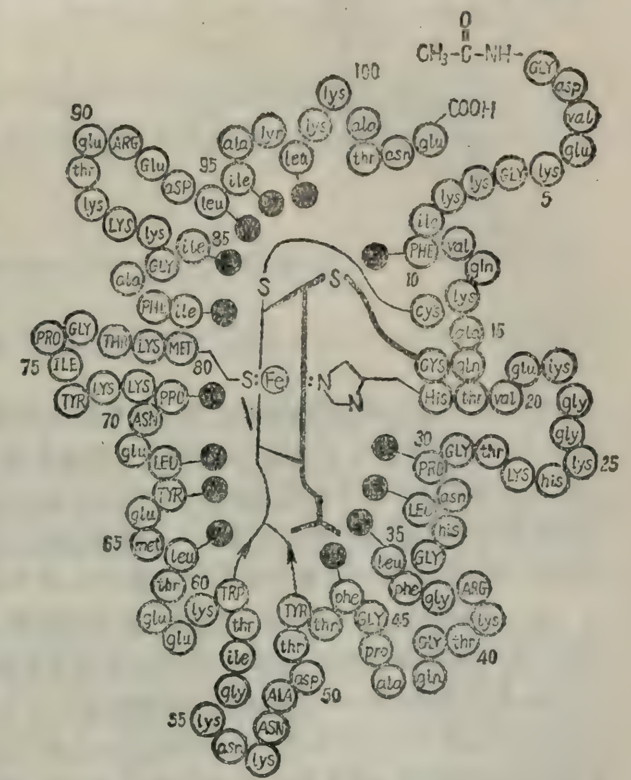


图 4-13 细胞色素 c 的空间结构

(分子内层的实心球指由疏水性氨基酸构成的疏水层)

从上面二个例子说明在蛋白质分子中，由于种属来源不同而可改变的氨基酸，对于该蛋白质的功能是不重要的，而不可改变的氨基酸对功能是重要的，它们或是直接处于“活性中心”，或对维持蛋白质特定构象起着重要作用。

研究不同来源蛋白质结构上的差异，不仅可以了解蛋白质的结构与功能的关系，也是研究生物进化的有力工具。在生物长期进化发展过程中，不断分化出结构与功能相适应的蛋白质。因此研究比较各种生物的某种蛋白质结构，找出它们之间的共同规律和各自的特殊规律，进而研究这些规律与生物进化的关系，这就是所谓分子进化问题。这方面研究较多的有细胞色素 c、血红蛋白、纤维蛋白肽等，下面简要介绍细胞色素 c 的研究情况。

细胞色素 c 是有机体最古老的蛋白质之一，对四十多种生物的细胞色素 c 的化学结构加以比较，凡与人类亲缘愈远者，结构差异也愈大。例如人类和黑猩猩的细胞色素 c 分子无论是 104 个氨基酸的种类、顺序和三级结构大体上都相同，但人与马相比就有 12 处不同，与鸡相比有 13 处氨基酸不同，与昆虫相比有 27 处不同，相差最大的是人与酵母相比有 44 处氨基酸不一样，从表 4-6 所列数据看出各个种属之间的亲缘关系，根据这些差异为生物进化提供了有价值的根据，所推算出来的生物种族系进化树与经典形态分类学的结果完全一致，辩证地说明生物进化过程中发生的变异和差别，不仅表现在各生物的外部形态结构上，也反映在蛋白质的结构上。用蛋白质来研究进化过程的优越性之一，是由于它们比较不受外界选择的直接影响，因为蛋白质结构比外表类型或解剖特点更远离选择的影响，更接近 DNA 遗传变异的原因。

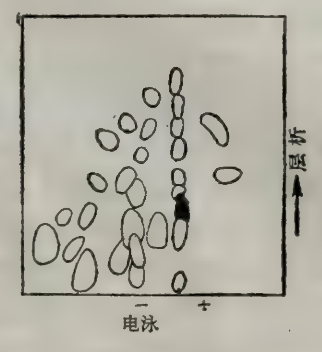
表 4-6　不同生物与人的细胞色素 c 相比较的氨基酸差异数目

生物名称	和人类不同的氨基酸数目	生物名称	和人类不同的氨基酸数目
黑猩猩	0	响尾蛇	14
恒河猴	1	海龟	15
兔	9	金枪鱼	21
袋鼠	10	狗鱼	23
鲸	10	小蝇	25
牛、猪、羊	10	蛾	31
狗	11	小麦	35
驴	11	粗糙链孢霉	43
马	12	酵母	44
鸡、火鸡	13		

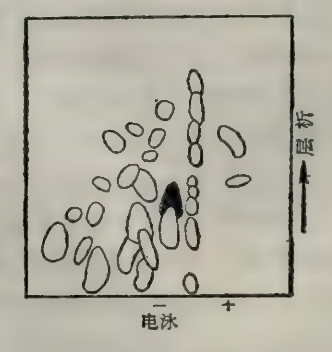
二、分子病与结构的关系

基因的突变，有可能导致蛋白质一级结构个别氨基酸的改变，使蛋白质生物活性减退或丧失，生理功能改变甚至引起机体病态，这就是所谓的“分子病”。一种引起人类恶性贫血并在非洲流行的镰刀型贫血病，就是由于病人的血红蛋白分子(用 Hb-S 符号表示)中，574 个氨基酸中只有二个氨基酸与正常人不同而引起的一种遗传性疾病。患者有头昏、胸闷等贫血症状，他们的红血球在氧气缺乏时成镰刀状，易胀破发生溶血，严重影响与氧结合的能力。

进一步研究知道这种病人的血球之所以会胀破，是由于其中的血红蛋白溶解度降低，在血球内能结晶出来，而且这种病人的血红蛋白与正常人的血红蛋白（用 Hb-A 表示）的等电点不同，正常人的 Hb-A 为 6.87，而病人的 Hb-S 为 7.09。二者在电场下移动速度不同，在 pH7.0 的条件下，Hb-A 向阳极移动而 Hb-S 向阴极移动。为追踪 Hb-A 与 Hb-S 二者在化学结构上的差异，研究结构与功能关系，应用了指纹法，即将这二种血红蛋白在同样条件下分别用胰蛋白酶进行部分水解切成多肽碎片，然后用双向电泳及层析法得到有 26 个肽段的酶解图谱(图 4-14)，分析比较知道 26 个肽段中只有一个肽段的“指纹”不同，进一步研究二者的氨基酸排列顺序，知道仅在 β-链的第 6 个氨基酸上有差别，即正常人血红蛋白 β-链第 6 个氨基酸为谷氨酸，而病人为缬氨酸。这样就使血红蛋白分子表面的负电荷减少，亲水



(a) Hb-A 正常血红蛋白



(b) Hb-S 镰刀状血球血红蛋白

图 4-14　人血红蛋白的酶解图谱

(有差异的肽段用黑色标出)

基团成为疏水基团，促使血红蛋白分子不正常聚合，致使体积下降，溶解度降低，血球随之收缩成镰刀型，输氧效能下降，细胞脆弱而发生溶血。近年来已有人试验用异氰酸盐等药物治疗镰刀型贫血症。异氰酸盐可与蛋白质侧链氨基作用，恢复该分子表面的电荷平衡，改善病情。

今已知人类有150种以上由于α、β、γ、δ肽链不正常引起的遗传性血红蛋白分子病，其中有的会引起病态。

上面这些事例都说明，每种蛋白质分子都具有其特定的结构来完成它特定的功能，甚至只有一个氨基酸的变化就能引起功能的改变或丧失，证实了蛋白质结构与功能的相适应性，二者之间具有高度统一性。

三、蛋白质的活力中心和活力碎片

用化学改性、有机合成和酶水解等方法研究蛋白质的活力中心和活力碎片，也是研究蛋白质结构与功能关系的一个重要方面。

(1) *用化学改性方法研究蛋白质的活性中心* 在蛋白质肽链的侧链基团中有一些基团是蛋白质生物活性所必需的，而且是直接和受体物质相作用的，这些基团可称作活性中心。通过化学改性的方法，有时可以确定活性中心所在。例如胰凝乳蛋白酶与二异丙基氟磷酸作用后，活性丧失，发现这是由于二异丙基氟磷酸与195位的丝氨酸相作用的结果。因此195位的丝氨酸是此酶活性中心所在。

(2) *结构修改与活性关系* 采用有机化学方法，去修改蛋白质或多肽化合物的结构，可以提高活性，增加长效性或者延长它在体内的作用，因此在生化制药工业中研究较多。例如将后叶加压素1位半胱氨酸的氨基去除，4位谷氨酰胺改为缬氨酸，8位L-精氨酸改为D-精氨酸后，其抗利尿的效果增加3～5倍，而增加血压的副作用则完全消除。在释放激素的制备中，也研制成功不少高活性的类似物，目前已成功地用于促进动物排卵的促黄体生成激素释放激素，当将该激素6位改为D-苯丙氨酸后，活力竟提高90倍。因此研究多肽类的结构与功能关系具有很大的生产实际意义。

(3) *用不完全水解法研究蛋白质的活力碎片* 在蛋白质结构中，往往发现有些片段是活性所“不必需”的。例如促肾上腺皮质激素(ACTH)是一个39肽激素，通过不完全水解的方法，将尾部切去一段15肽，即切去25～39位的片段，留下的1～24位的24肽仍具有全部生物活力。这启示我们，在用合成法制造该激素时只需合成这段具有活性的24肽就够了。

四、蛋白前体及前体激活的研究

已经发现很多酶、蛋白激素以及凝血蛋白等物质，它们在体内往往是以前体的形式而贮存着的。据研究知道不具生物活性的前体肽链比较长，经过体内蛋白酶水解作用，切除多余的肽段后，便成为有活性的蛋白。由消化道分泌的一些蛋白酶，如胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰糜蛋白酶等原来都是以酶原的形式存在，在体内切去一段或几段肽后就激活成有催化活性的酶。如前述的牛胰岛素原是由84个氨基酸组成的一条肽链，当被体内专一性的蛋白酶作用

后，拦腰切去一段由33个氨基酸组成的C肽，就形成由A，B两条链组成的具有活性的胰岛素。

五、分子起源问题

研究了一系列天然蛋白质和多肽的一级结构后，发现一些不同功能的蛋白质，在初级结构或高级结构上往往有相类似之处，使我们有理由推测它们可能是从一个共同的"古老蛋白"衍生出来的。例如促甲状腺素(TSH)、促黄体生成激素(LH)、促滤泡成熟激素(FSH)和绒毛膜促性激素(HCG)，虽然分泌它们的腺体不完全相同，如前三者由垂体前叶分泌，后者由绒毛膜分泌，生理功能的差异也很大，但它们在结构上却有相似之处，它们都是含糖蛋白，蛋白质部分都是由α和β两种亚基组成，而且α-亚基的化学结构非常相似，β-亚基则差异较大。推测这几种蛋白质可能都是由同一种古老的蛋白质演化而来的。

从上面一些例子说明，研究蛋白质结构和功能的关系，不仅可以更深入地阐明很多生命现象，而且也是指导某些生产实践的理论依据。

第六节　蛋白质的理化性质

由于蛋白质是由氨基酸组成，因此有许多与氨基酸相关的化学性质，如等电点、二性离子、双缩脲反应，但它与氨基酸有着质的区别，如有空间构型、分子量大、有胶体性质、沉淀、凝固、变性等现象。

一、蛋白质的胶体性质

蛋白质是高分子化合物，分子量一般在一万到一百万道尔顿之间。胰岛素在蛋白质中属于分子量较小的。具有催化尿素分解的脲酶分子量为483,000道尔顿，由6个亚基组成，每个亚基的分子量为83,000道尔顿；具有感染烟草患花叶病的烟草花叶病毒的蛋白分子量为40,000,000道尔顿，它是由2130个亚基组成的。各种蛋白质分子量见表4-7。

由于蛋白质分子量大，分散在溶液中所形成的颗粒直径约为1～100 nm，在水中形成胶体溶液，具有布朗运动、光散射现象、电泳现象、不能透过半透性膜以及具有吸附能力等特征。

利用蛋白质不能通过半透膜的性质，有关实验室或工厂常选用一定孔径的半透性膜，如羊皮纸、火棉胶、玻璃纸和肠衣等，来去掉蛋白质溶液中的小分子杂质，如NaCl、$(NH_4)_2SO_4$等盐类和核苷酸、氨基酸、辅酶等小分子有机物，达到精制纯化蛋白质目的。具体操作时，先把含有小分子杂质的蛋白质溶液盛在一半透性膜的袋(称透析袋)中，然后将这透析袋放在流动的水中，小分子化合物就不断从半透膜袋中渗出，而大分子的蛋白质仍留在袋内，经过一定时间的处理，就可达到纯化目的，这种方法称透析法，是制取蛋白质制品、研究酶的性质和代谢途径时的常用方法。

蛋白质颗粒大，在溶液中具有大的表面，且表面分布着各种极性和非极性基团，因此对许多物质都有吸附能力，一般极性基团易与水溶性物质结合，非极性基团易与脂溶性物质结

表 4-7　一些蛋白质的分子量、亚基数及亚基分子量

蛋白质名称	分子量(道尔顿*)	亚基	
		亚基数	分子量(道尔顿)
烟草花叶病毒蛋白	40,000,000	2130	17,500
马铃薯 X 病毒蛋白	35,000,000	650	52,000
RNA 多聚酶	880,000	2	440,000
醇脱氢酶(酵母)	150,000	4	37,000
脲　酶	483,000	6	83,000
天冬酰胺酶	255,000	2	139,000
血红蛋白(人)	64,500	4	16,000
α-淀粉酶	97,600	2	48,800
溶菌酶	14,300	1	14,300
RNA 酶	13,683	1	13,683
细胞色素 c	12,398	1	12,398
胰岛素	5,734	1	5,734

* 道尔顿：是原子的绝对质量单位，常用符号 d 表示。也可用来表示分子的绝对质量。一个道尔顿等于一个 ^{12}C 原子的绝对质量的 1/12，相当于 1.66033×10^{-27} 千克。

合。

蛋白质的水溶液是一种比较稳定的亲水胶体，这是由于蛋白质颗粒表面带有很多极性基团，如 $-NH_3^+$、$-COO^-$、$-CONH_2$、$-OH$、$-SH$ 等，和水有高度亲和性，当蛋白质与水相遇时，就很容易被蛋白质吸住，在蛋白质颗粒外面形成一层密度较厚的水膜(或称水化层)。水膜的存在使蛋白质颗粒相互隔开，颗粒之间不会碰撞而聚成大颗粒。因此蛋白质在水溶液中比较稳定而不易沉淀。

蛋白质能形成较稳定的亲水胶体的另一个原因，是因为在非等电状态时蛋白质颗粒上带有同性的电荷，使蛋白颗粒之间相互排斥，保持一定距离，不致互相凝集沉淀。

蛋白质的亲水性具有十分重要意义。生物体中最多的成分是水，蛋白质的活动是在水中进行的，少量的亲水胶体可与大量水分结合，形成各种流动性不同的胶体系统。如构成生物细胞的原生质，是异常复杂的非均一性的胶体系统。各种细胞组织之所以具有一定形状、弹性、粘度等性质，也是与蛋白质胶体的亲水性分不开的。

二、蛋白质的带电性、等电点、电泳和各种电泳方法

蛋白质颗粒带电荷，主要是由于蛋白质分子上除了肽链两端有自由 $\alpha-NH_2$ 和 $\alpha-COOH$ 外，在侧链上还有很多解离基团，如 $\varepsilon-NH_2$、$\gamma-COOH$、$\beta-COOH$、咪唑基、胍基等，在一定的 pH 条件下都能解离为带电基团而使蛋白质带电。下面为一个由五个氨基酸组成的五肽，上有 7 个可解离的基团，在不同 pH 条件下可分别解离而带电。处于酸性条件而带正电荷，当用碱滴定时，就促使 $-COOH$ 解离成 $-COO^-$。

```
       H+
  HC—N
  ‖    \
  ‖     CH
  C—N  /        COOH          NH3+              COOH           C(NH2+)(NH2)
  |  H            |             |                 |              |
  CH2    O       CH2    O     (CH2)4    O        CH2    O        NH
  |     //        |    //       |      //         |    //        |
                                                                (CH2)3
+NH3—C—C—NH—CH—C—NH—CH—C—NH—CH—C—NH—CH—COOH
     H
```

组　　　　天冬　　　　赖　　　　谷　　　　精

因此蛋白质和氨基酸一样也是两性电解质，在水溶液中能解离，解离程度和生成的离子情况是由各种蛋白质分子中可解离的基团数和溶液的 pH 值所决定的。在不同 pH 条件下分别成为阳离子、阴离子和二性离子。一般在酸性溶液中带正电荷，在碱性溶液中带负电荷。当某一 pH 值时蛋白质颗粒上所带的正负电荷正好相等，在电场中既不向阴极也不向阳极移动，这时溶液的 pH 值即为该蛋白质的等电点。当溶液的 pH 值小于等电点时，蛋白质成阳离子并向阴极移动。溶液的 pH 值大于等电点则蛋白质成阴离子而向阳极移动。

各种蛋白质具有特定的等电点，这是和它所含氨基酸种类和数量有关的，也就是和蛋白质所含的酸性和碱性氨基酸的比例有关。含酸性和碱性氨基酸数目相近的蛋白质属中性蛋白，等电点大多为中性偏酸。如胰岛素等电点为 5.35，每个胰岛素分子含 4 个酸性氨基酸残基和 4 个碱性氨基酸残基。含碱性氨基酸较多的碱性蛋白，等电点偏碱，如细胞色素 c 的等电点为 9.8～10.8，每分子细胞色素 c 含酸性氨基酸残基 12 个、碱性氨基酸残基 25 个。从雄性鱼类成熟精子中提取的鱼精蛋白含精氨酸特多，等电点为 12.4。含酸性氨基酸较多的酸性蛋白如胃蛋白酶的等电点为 1.0 左右，它的酸性氨基酸残基为 37 个，而碱性氨基酸残基仅含 6 个。大多数蛋白质的等电点近于 5.0。一些蛋白质的等电点值见表 4-8。

表 4-8　几种蛋白质的等电点

蛋白质名称	等电点	蛋白质名称	等电点
鱼精蛋白	12.00～12.40	血纤维蛋白原	5.5～5.8
胸腺组蛋白	10.8	胰岛素(牛)	5.30～5.35
溶菌酶	11.0～11.2	明胶	4.7～5.0
细胞色素 c	9.8～10.3	血清清蛋白(人)	4.64
RNA 酶	7.8	鸡蛋清蛋白	4.55～4.9
血红蛋白	7.07	胰蛋白酶(牛)	5.0～8.0
血清 γ_1-球蛋白(人)	5.8～6.6	丝蛋白(家蚕)	2.0～2.4

由于等电点时蛋白质颗粒上所带总的正负电荷数目相等，即总净电荷为零，蛋白质失去胶体的稳定条件，颗粒之间互相易碰撞而成较大颗粒，发生浑浊或出现沉淀，故等电点时蛋白质的溶解度最小，同时粘度、渗透压和导电能力也都最小，常常可用这些性质来测定蛋白质的等电点和用于分离提取蛋白质。例如根据蛋白质在等电点时易浑浊和出现沉淀的特性，可以用配制一系列不同 pH 的缓冲液的方法来测定蛋白质的等电点。也可根据蛋白质在电场中不移动的性能来准确地测定等电点。

由于等电状态的蛋白质易出现沉淀，因此应用等电点这一性质，调节蛋白质溶液的 pH 达到该蛋白质的等电点，可以使该蛋白质从溶液中析出。或者在等电状态的蛋白质溶液中加入乙醇或丙酮，与蛋白质争夺水分，使蛋白质更易沉淀。

在药物应用上，可利用改变等电点的方法来延长某些蛋白质生化药物的疗效。例如胰岛

素在体内作用时间一般为6～8小时，当等电点为5.3的胰岛素与等电点为12.4的鱼精蛋白在同一pH条件下，因带电不同二者可相互结合为鱼精蛋白-胰岛素络合物，这络合物的等电点为7.3，和人体体液的pH接近，所以溶解度降低，使人体对之吸收缓慢而均匀，可延长胰岛素的疗效时间达24～48小时。临床称长效胰岛素。

带电的胶体颗粒在电场中可以向电荷相反的电极移动，这种性质称电泳现象。由于蛋白质颗粒上带有电荷，因此在电场中能泳动。移动的速度和方向主要决定于蛋白质分子上所带电荷的正负性、电荷数目以及颗粒大小和形状等。由于各种蛋白质的等电点不同和颗粒大小各不相同，在同一个pH条件下各具不同的带电性，在电场中移动的方向和速度也各不相同，这样就可以把蛋白质混合液中各种蛋白质分离开来，或用来检定某一蛋白质制剂的纯度，判断是否还有其他杂蛋白存在。

电泳的方法有二类：① 界面电泳：即将蛋白质样品小心地装入U形管，然后用与这蛋白质样品同一pH和相同离子强度的缓冲液小心地重迭加上去，使蛋白质溶液与缓冲液之间形成一界面，当通以直流电后，蛋白质与缓冲液之间的界面就移动，当样品中有几种蛋白质时，因电泳速度不同就可得到几种清楚的界面，由于界面二侧溶液的折光指数不同，可以通过光学系统观察到界面移动的情况和界面数。这种仪器复杂，操作技术要求高，但可精确测定电泳的速度。② 区域电泳：是使蛋白质分子在一固体支持物的电场上移动，由于各种蛋白质在支持物上移动速度不同而形成几个区带，故名之。此法简便、快速、微量和设备简单。支持物除用滤纸外可在玻板上覆以琼脂或淀粉，用于小量蛋白质的提纯和纯度鉴定。当用滤纸作支持物时称为纸上电泳。

例如人血清中含有清蛋白、α_1-、α_2-、β-和γ-球蛋白等多种蛋白质。它们的等电点各不相同(见表4-9)，在pH 8.6的缓冲液中都以阴离子状态存在，通电后都向阳极移动，由于它们所带电荷数目和分子量不同，在电场中泳动的速度不同，清蛋白移动速度最大，γ-球蛋白最小。当血清样品放在一张被一定pH值的缓冲液饱和的滤纸上，通电后，各种蛋白质就以不同速度在这电场的滤纸平面上移动，经过一定时间后，这几种蛋白质就分开，经烘干固定在纸的不同部位，形成的区带用适当染料如溴酚蓝、氨黑10B等染色后就可以明显地区分出来，如图4-15所示。如果将各条区带分别剪下，洗脱后比色，可计算出这几种蛋白质的相对含量。

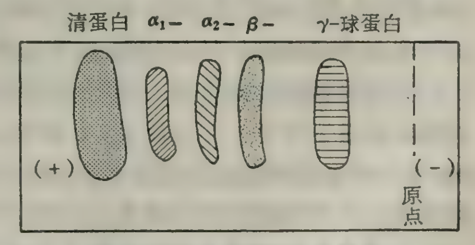


图4-15　人血清纸上电泳图

表4-9　我国正常成人血清纸上电泳分析结果

蛋白质	等电点	克/100毫升血清	分子量	占总蛋白的百分比
清蛋白	4.64	4.0	69,000	56.70
α_1-球蛋白	5.06	0.31	200,000	3.74
α_2-球蛋白	5.06	0.48	300,000	7.65
β-球蛋白	5.12	0.81	9～15万	11.53
γ-球蛋白	6.85～7.3	0.71	156,000	20.30

近年来，广泛应用醋酸纤维薄膜作支持物进行电泳比纸上电泳效果更好，电泳图谱清晰，定量正确，时间又短，某些用纸上电泳不能分离的蛋白样品如胎儿甲种球蛋白(AFP)，

用醋酸纤维薄膜电泳时却能清楚分离。

近年来发展起来的电泳方法有三种，即聚丙烯酰胺凝胶电泳法，利用电泳与等电点结合起来的等电聚焦法，以及利用免疫扩散与电泳结合起来的免疫电泳法。

聚丙烯酰胺凝胶电泳又称分子筛电泳，此法乃利用聚丙烯酰胺凝胶作支持物进行的区域电泳，具有电泳和凝胶过滤两方面优点。由于电泳是在二种不同孔径、离子成分、pH 值和电场强度的凝胶中进行的，故又称不连续电泳。电泳时样品先在不连续的两相间积聚浓缩成很狭的范围，然后再分离，故具有样品浓缩效应、分子的筛选效应和电荷效应。这种电泳分辨率比纸电泳高得多，用纸上电泳分离人血清只能分出 5～6 种蛋白质，用此法可分出 20～30 种蛋白质。常用于蛋白质纯度鉴定。所用聚丙烯酰胺是一种人工合成的凝胶，由丙烯酰胺单体和交联剂(甲叉双丙烯酰胺)在有催化剂(如四甲基乙二胺)存在下聚合并交联而成的。通过调节单体浓度或单体与交联剂的比例，可得到一定大小孔径的凝胶。由于电泳后分出的各组分很象一个个薄的圆盘，故又称盘式电泳。此法设备简单，所需样品量小，只要 1～100 微克即可，由于分辨率高，也可用于少量蛋白质的纯化，一般在 100 微克左右。

等电聚焦法又称两性电解质支持体电泳法。是利用某些两性电解质的支持物在电场中形成 pH 梯度，使具有两性电解质性质的蛋白质样品，在与它们等电点相应的 pH 区集中来达到分离目的。这些两性电解质支持物是一些脂肪族多氨基多羧基的混合物，分子量在 300～1000 之间，它们的等电点各相异又相互接近，pH 范围在 2.5～11。将这支持物装入玻璃柱内，在直流电场作用下，这些两性电解质可以从阳极到阴极形成一个 pH 值由 2.5～11 逐渐升高的连续 pH 梯度。加入蛋白质样品时，在电场作用下，蛋白质就与两性电解质支持物同时电泳，并移动到与它们自身等电点相当的 pH 区域，使各种蛋白质分别集中在不同的 pH 位置，达到分离纯化和浓缩目的。这种方法分辨率高，蛋白质的等电点相差仅 0.02 pH 即可分开，可用于分析、制备和鉴定酶的纯度。测定蛋白质最高浓度部位的 pH 值即得其等电点值，故可用于鉴定蛋白质。此法精确度高，重复性强，使用方便。

免疫电泳法是将抗原 (Ag) 免疫家兔，得到相应的抗血清 (即抗体 Ab)。当抗体与抗原相遇时就会发生专一性沉淀反应，形成沉淀带。免疫电泳通常是用琼脂糖制成的凝胶为载体，抗原样品先在琼脂糖胶的板上电泳，然后在板的另一侧放上抗血清，进行双扩散反应，即得到相应的抗原抗体的沉淀带。

目前广泛应用的对流免疫电泳就是利用免疫方法，将抗体和抗原分别加入琼脂糖板的样品孔内，在 pH 8.6 条件下进行电泳，由于抗原通常带负电荷，在电场中向阳极移动，而抗体属 γ-球蛋白，在这条件下，虽也带少量电荷，但因电渗作用而使其向阴极倒退。当将抗体置于阳极，抗原置于阴极时，二者在电场作用下处于对流状态而会相遇，特异性的抗原、抗体就相互结合形成可见的白色沉淀带。此法快速，灵敏度比一般的双扩散法高得多，目前为临床诊断肝癌的方法之一。

三、蛋白质的沉淀作用和分离制备方法

1. 蛋白质的沉淀作用

蛋白质由于带有电荷和有水膜，在水溶液中成稳定的胶体。但这种稳定性是有条件的，相对的，当改变条件除去这些稳定因素就使这相对稳定的蛋白质胶体转化为不稳定。如在蛋

白质溶液中加入适当的试剂，破坏它的水膜或中和它的电荷，就很易使蛋白质变得不稳定而发生沉淀现象。

在日常生活中，蛋白质沉淀的现象是很多的，如豆浆中加入少量盐卤而析出豆腐花，热牛乳中加入稀醋酸后有蛋白结絮而析出沉淀。引起蛋白质沉淀的方法很多。盐析法和加脱水剂法是分离制备蛋白质制剂、酶制品时常用的方法。此外还可调节溶液的 pH，使达到该蛋白质的等电点而失去电荷，蛋白质即沉淀下来。

科学实验和生产实际中，使蛋白质沉淀一般有二个目的：一是为了制备具有生物活性的蛋白质制剂；或是为了去掉某些杂蛋白。上述方法主要用于前者，这些方法所得蛋白质沉淀仍具生物活性。此外，可以用加热法使蛋白质凝固；用重金属盐（如汞、银、铜盐）或磷钨酸、三氯醋酸和生物碱等沉淀剂都可使蛋白质沉淀。但这些方法不仅可使蛋白质沉淀，而且往往使蛋白质失去生物活性，且不能再重新溶解，故不宜制备具有活性的蛋白质制剂。而在分析测定某样品中非蛋白质成分，制备核酸等物，以及中止酶的作用时，则常用到这些方法。

2. 蛋白质的分离制备

蛋白质结构十分复杂，为要从生物机体中将某一种蛋白质分离出来，又要避免由于结构的改变所导致的生物功能丧失，分离纯化过程中必须十分小心，要保持低温，尽可能不采用剧烈的条件。

制备蛋白质的原料必须新鲜，如不能立即进行处理，则必须妥为保藏。可用冷冻保存或用丙酮脱水脱脂后制成丙酮干粉保存。对体液中的蛋白质，一般可直接用有关方法提取。而组织细胞内的蛋白质必须先使细胞破碎，然后用一定溶液提取。常用来破碎细胞组织的方法有石英砂研磨、玻璃珠高速匀浆器、高速搅拌机、搅肉机等机械破碎法，低渗溶胀的渗透破碎法，超声波，外加酶消化，自溶法以及冷热破壁法等。

分离纯化蛋白质采取何种方法，主要根据蛋白质的物理化学性质来决定的。可以用无机盐或有机溶剂等去除蛋白质颗粒外的水膜和中和电荷，而使蛋白质分级沉淀出来，也可以利用各种蛋白质分子大小、电荷及特殊的亲合力不同，采用超离心、电泳及各种层析方法将它们分离开来。现将几种主要方法介绍如下：

(1) 盐析法 在蛋白质水溶液中加入无机盐（如硫酸铵、硫酸钠、氯化钠等）后，可产生二种现象。在盐浓度较低时，蛋白质溶解度增加的趋势为主，蛋白质易溶解，称为盐溶现象。这是由于蛋白质颗粒上吸附某种无机盐离子后，使蛋白质颗粒带同种电荷而相互排斥，并与水分子作用加强，从而溶解度增加。一些球蛋白溶液在透析过程中往往随着无机盐的去除而易发生沉淀，就是因为去除了这些离子后，使蛋白质颗粒间相互作用增加而引起的。当盐浓度增高（如饱和或半饱和程度）时，蛋白质溶解度降低的趋势起决定作用，便易发生沉淀，这种由于加入一定量的盐而使蛋白质发生沉淀的作用称为盐析现象。因为这些盐类既与水的亲和性大，又是强电解质，当一定浓度的盐加到蛋白质溶液后，一方面与蛋白质争夺水分，破坏蛋白质颗粒表面的水膜；另一方面，由于这些盐的离子浓度相对地比较高，可以大量中和蛋白质颗粒上的电荷，这样就使蛋白质成了既不含水膜又不带电荷的不稳定颗粒而容易沉淀。

常用的盐析剂是硫酸铵，具有盐析能力强、较高的溶解度、较低的溶解温度系数（0°C 时 706 克/升，25°C 时 766 克/升）、价格低廉和不产生副作用等优点，但缓冲能力较差，pH 较难控制。此外，还可用硫酸钠、氯化钠作盐析剂，由于它们不含氮，所得蛋白制剂可直接用定

氮法进行含量测定，但硫酸钠在30℃以下溶解度低，必须在30℃以上条件操作。

盐析方法应用很广，几乎所有蛋白质都可用硫酸铵来盐析制取，简便安全，而且所得的蛋白质并不失活，在一定条件下可以重新溶解，故常用来制取具活性的蛋白质。如与其他方法配合应用，可得到高度纯化的蛋白质。

盐析的具体过程是，先将蛋白质溶液的pH调至等电点，使其溶解度达到最低，然后加入固体硫酸铵（或其饱和水溶液），并达到一定浓度（以饱和百分比表示），这时该蛋白质即从溶液中析出，经过滤或离心分离，透析去盐，即得该蛋白质制品。

由于各种蛋白质所带电荷不同，分子量不同，在高浓度的盐溶液中溶解度不同，因此一个含有几种蛋白质的混合液，就可用不同浓度的硫酸铵来使其中各种蛋白质先后分别沉淀下来，达到分离提纯的目的，这种方法称分级沉淀。如人血浆中蛋白质种类很多，我国从血浆中提取各种高纯度、高浓度的蛋白制品主要就是用此法，可将血浆蛋白分为纤维蛋白原、优（真）球蛋白、拟（假）球蛋白、清蛋白等几个主要组分（表4-10）。

表4-10 血浆蛋白的盐析

蛋白质	克/100 ml 血浆	占血浆总蛋白的百分率(%)	盐析时所需硫酸铵的饱和度*(%)
纤维蛋白原	0.3	4	20
优球蛋白	0.2	3	33
拟球蛋白Ⅰ	1.3	17	40
拟球蛋白Ⅱ	0.5	7	46
清蛋白	5.2	69	62～70

* 常温下100毫升水中，硫酸铵溶解的最大量约70～76克，即达到饱和。

正常人血浆蛋白的总量约7.2克%左右(6.5～7.8克)，其中清蛋白含5克%(4.5～5.2克)，球蛋白为2.5克%(1.5～3.0)，二者含量比例(即清/球)约为1.5～2.5/1。当患肾炎、肝炎时，清蛋白减少；患慢性传染病时球蛋白增加，使二者比例改变甚至倒置，故测定清/球比例在临床具有重要诊断意义。通常在血浆中直接加入50%饱和度的硫酸铵，使球蛋白都沉淀下来，留在上清液中的清蛋白再用饱和硫酸铵使之沉淀下来，从而求出二者比例。

用盐析法得到的蛋白质，常需要脱盐和浓缩。最直接的脱盐法是用透析袋透析，电透析可加快透析速度。近年来用葡聚糖凝胶脱盐，效果很好，速度又快。浓缩蛋白溶液最好是用冷冻干燥法制成干粉，另外超过滤方法也已成为一种常用的浓缩方法。

(2) 有机溶剂法　在蛋白质溶液中，加入较多量与水相溶的有机溶剂，由于这些溶剂与水亲和力大，能夺取蛋白质颗粒上的水膜，使蛋白质的溶解度降低而沉淀。常用的有机溶剂有乙醇、丙酮等。由于有机溶剂往往能使蛋白质变性失活，因此用有机溶剂来沉淀分离蛋白质时宜用稀浓度的有机溶剂并在低温下操作。加入有机溶剂时要搅拌均匀，以防局部浓度过高而引起失活。用有机溶剂得到的蛋白质不宜在有机溶剂中放置过久。要立即加水溶解。由于使不同种蛋白质沉淀所需的有机溶剂的浓度不同，因此通过调节溶剂的浓度也可使混合蛋白质达到分级沉淀目的。分离血浆蛋白及制备绒毛膜促性腺激素都可用乙醇分级沉淀。制备天花粉蛋白制剂时，则采用丙酮沉淀法。

(3) 凝胶过滤法　又称分子排阻层析或分子筛层析法，适用于水溶性高分子物质的分离，如蛋白质、酶、核酸、激素、病毒及多糖等，广泛用于生化分析和测定上，操作简便，分离迅速，重复性高，是分离纯化的重要技术之一。

这种方法主要是根据被分析物的分子量不同，通过一固定相(即凝胶)构成的柱进行层析来达到分离纯化目的。由于凝胶颗粒具有细微孔的结构，象只筛子，故称分子筛。分子筛的筛分概念正巧与日常生活中的筛子概念相反。日常生活中的筛子是将小颗粒筛去而大颗粒留在筛子内，而凝胶分子筛是先筛出或滤出大分子，再依分子大小而依次筛出。用同位素证明，小分子物质能进入凝胶颗粒内，而大分子物质则被排阻在颗粒之外。由于所用的凝胶物质大都是不带表面电荷的，因此在层析过程中，一般不须变换洗脱液，实质上只是一种过滤作用。

凡具有分子筛效应的多孔网状物质都可用于凝胶过滤法。目前应用最多的有葡聚糖凝胶(Sephadex)、琼脂糖凝胶(Sepharose)，此外还有聚丙烯酰胺凝胶和微孔玻璃等。葡聚糖凝胶是由水溶性的葡聚糖(即右旋糖酐)和环氧氯丙烷交联剂相互交联聚合而成，交联剂愈多，孔径愈小，故可通过控制交联剂与葡聚糖的配比来制备各种孔径规格的凝胶。

凝胶柱层析过程如下：当含有大分子和小分子的混合物加到凝胶柱上后，混合物中各组分便随着洗脱液的流动而按分子量大小以不同速度向下移动，大于凝胶孔径的分子不能进入胶粒内部，通过凝胶床的行程最短，故首先被洗脱下来。而比胶粒孔径小的分子能进入胶粒内部，不断地从一个网孔穿到另一网孔，这样因“绕道”而移动速度就慢，分子愈小绕道愈多，这样依分子大小的顺序而从胶床上洗脱下来。图 4-16 中 I 为混合物刚加入柱，等待筛分。II 表示小分子物质扩散于胶粒缝隙而进入胶粒网孔内部，大分子物质则被排阻在胶粒之外。加入洗脱液后，随着洗脱液的向下移动，大分子物质从胶粒之间的空隙向下流动进入下层新的凝胶层中，大分子流速快而小分子流速慢。III 表示小分子物质尚在凝胶粒中，而大分子物质已通过凝胶层流出柱外，这样最先流出的洗脱液中就含有分子量最大的物质，而最后流出的为分子量最小的物质，分段收集，可使各种分子量的物质得以分离。

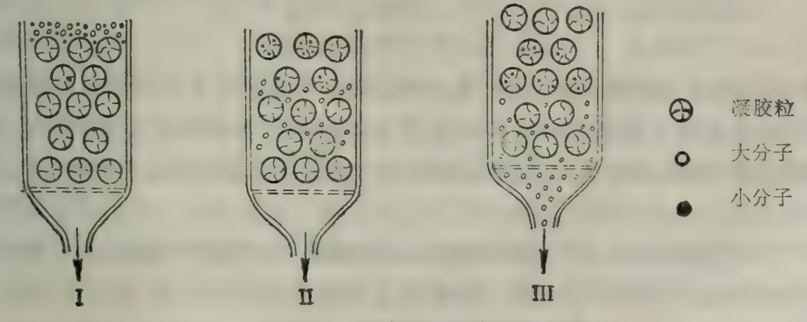


图 4-16　凝胶层析分离过程示意

凝胶过滤除在柱内进行外，也可在薄板上进行，适用于分析工作及少量物质的分离。目前凝胶过滤法在我国已广泛应用于生化各个方面，国产葡聚糖凝胶已应用于蛋白质、核酸、核苷酸和氨基酸的分离制备，药物制剂的去热原蛋白和酶制剂的脱盐、浓缩，以及抗菌素的分离纯化，肝炎病毒的分离等方面。

(4) *亲和层析法*　这是一种高度专一性的分离方法。生物高分子(如蛋白质、核酸)在实现其生物功能过程中或在功能被阻碍过程中，具有能和某些相对应的专一性分子(称配基)可逆结合的特性。例如酶的活性中心和变构中心部位，能和专一性底物、抑制剂、辅酶和效应剂(变构因子)等物质通过某些次级键相互结合，并在一定条件下又可以解离。其他如抗体与抗原、激素与其受体、核糖核酸与其互补的 DNA 之间等也都具有类似的特性。这种生

物高分子与其配基之间形成专一的可解离的络合物的能力称为亲和力。根据这种具有亲和力的生物分子间可逆结合和解离的原理发展起来的层析，称为亲和层析，也可称为生物专一性吸附。

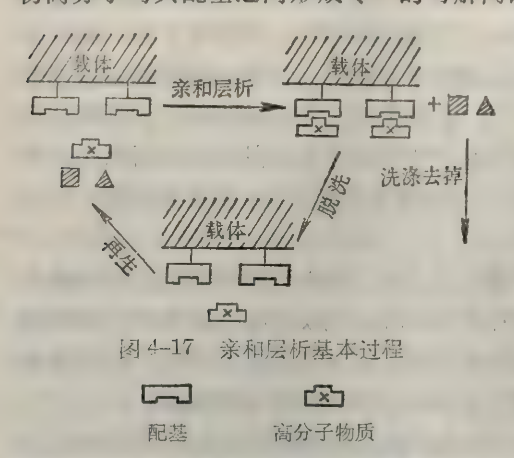


图 4-17　亲和层析基本过程

具体进行时，先将欲分离的 X 高分子物质的配基与固相载体结合成固相化的配基，并装入层析柱内，然后将含有高分子物质 X 的混合物加入固相化配基的柱上，由于配基能从混合物中选择性地“抓”住它对应的物质并与之结合成络合物，其余不能结合的杂质则直接流出，用缓冲液洗涤层析柱以去除非亲和性的杂质后，在一定条件下用洗脱液使亲和性的高分子物质从固相化配基上解离下来，这样就达到分离纯化的目的。亲和层析基本过程见图 4-17。

亲和层析的固相载体常用的有纤维素、葡聚糖凝胶、琼脂糖凝胶等，上面具有活化或供化学改性的羟基。固相载体在偶联配基前的活化方法，以琼脂糖溴化氰活化法最为重要。琼脂糖的羟基在碱性条件下经溴化氰作用后形成活泼的亚氨基碳酸盐基团，能直接与含有氨基的配基（如蛋白质分子）偶联形成氨基碳酸盐和异脲衍生物，因而可制备出固相酶、固相抗原、固相蛋白激素等。根据需要琼脂糖经活化后还可接上一定长的“手臂”后再与配基偶联，这样配基就有更大的空间活动性，能更有效地去“捕获”相对应的物质。

$$\text{琼脂糖}\begin{cases}-OH\\-OH\end{cases}\xrightarrow[\text{“活化”}]{CNBr}\begin{cases}-O\\-O\end{cases}\!\!>C=NH\xrightarrow[\text{偶联}]{H_2N-\text{配基}}\begin{cases}-O-\overset{\overset{NH}{\|}}{C}-NH-\text{配基}\\[1ex] -O-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NH-\text{配基}\\ -OH\end{cases}$$

由于亲和层析是专一性的吸附方法，故效率很高，特别对稀浓度的蛋白质成分，往往通过一次亲和层析，就能使它分离出来。亲和层析可用来纯化各种酶或酶的抑制剂、抗体和抗原、蛋白激素和激素受体、维生素结合蛋白、核酸等，在实验室进行微量分析分离工作中尤为重要。

上述各种方法分离纯化得到的蛋白质样品须进行其纯度或均一性的鉴定，除应用结晶、化学组成分析和超离心分析外，目前用于纯度检定的还有等电聚焦法、凝胶电泳法以及免疫电泳法，这些方法分辨力强、直观、简便易行。

四、蛋白质分子量的测定

一些测定小分子物质分子量的方法如冰点降低、沸点升高或蒸气压减小等方法，对于大分子的蛋白质分子来讲是完全不适用的。

测定蛋白质分子量的方法，除了根据蛋白质的化学成分来测定外，从根本上说都是根据它的物化性质。

1．根据化学成分测定分子量

利用化学方法定量测定蛋白质中某一特殊元素（或某一种氨基酸）的百分含量，然后假

定该蛋白质分子中只含有这元素一个原子(或一个分子的某种氨基酸)，即可计算出该蛋白质的最低分子量。

$$最低分子量=\frac{原子量\times 100}{组成百分数}$$

如血红蛋白分子中含有 0.335% 铁(原子量=55.84)，从上公式可计算出其最低分子量为 $55.84\times 100/0.335=16700$。

用其他方法测知血红蛋白分子量约 65000，为 16700 的四倍，可见一个血红蛋白分子含有四个铁原子。

2．渗透压法

上面已谈到蛋白质不能透过半透性膜，当用一张半透膜将蛋白质溶液和纯水隔开时，由于膜两侧存在着浓度差，会产生一定的渗透现象，使水流向蛋白质溶液中，直到溶剂水分子向膜两方面渗透的速度相等时为止。在这种动态平衡下，由蛋白质溶液的液面与水的液面之间的高度差便可求出渗透压。蛋白质分子量愈大，渗透压就越小。从渗透压求分子量的公式如下：

$$M=\frac{C}{\pi}RT$$

π 为渗透压，以大气压表示；M 为分子量；C 为浓度，以每升中克数表示；R 为气体常数(0.082 升·大气压/克分子·度)；T 为绝对温度。

3．超离心法

一个悬浮液当静置时，悬浮液中较大的颗粒因重力的作用而下沉，这种过程称沉降，沉降的速度与颗粒大小成正比。另一方面悬浮在溶液中的颗粒具有使浓度趋向均匀的扩散作用，扩散的方向与沉降的方向相反，扩散的速度与颗粒大小成反比。对于蛋白质胶体溶液来说，蛋白颗粒由于扩散和受到的浮力作用，因此重力作用不会使蛋白质沉降。

如果我们用超离心方法，增加蛋白质溶液的离心力强度，那么情况就不同了，一个25～50 万倍重力场的离心力作用下，分子量仅一万的蛋白质颗粒就会沉降下来。当溶液中所含蛋白质颗粒的大小和形状都相同时，这些颗粒以相同的速度移向管底，并形成清楚的界面。当溶液中含有多种大小不同的蛋白质颗粒时就会有几个界面，用特殊的光学系统可以观察到沉降界面，从而判断出蛋白质的沉降速率，当沉降界面以恒速移动时，单位(厘米)离心场里的沉降速度称沉降常数或沉降系数，用 S(Svedberg)表示，一个 S 单位为 1×10^{-13} 秒，因此 8×10^{-13} 秒的沉降系数用 $8S$ 表示，蛋白质的沉降系数 S(20℃ 在水中)大约为 $1\times 10^{-13}\sim 200\times 10^{-13}$ 秒，用超离心法可测出 S，然后再用一定公式即可计算出蛋白质的大小及分子量。这种方法称沉降速度法。

当一个含多种蛋白质的混合液在超离心速度不太高的情况下，一方面由于重力作用，按蛋白质分子的大小以不同速度向器底沉降，另一方面蛋白质颗粒又从高浓度向低浓度处扩散，在沉降和扩散的相互作用下，可使蛋白质这些颗粒最后达到平衡状态，称沉降平衡，蛋白颗粒在溶液中呈现稳定态的连续分布即形成某种浓度梯度，通过测定这种浓度分布就可以求出蛋白质的大小和分子量，这种方法称沉降平衡法。

利用氯化铯或蔗糖等作介质，在离心力作用下，介质形成一定的密度梯度，大小不同的蛋白质便停留在不同的密度层上，根据超离心速度和蛋白质停留的位置可求出分子量，这种方法称密度梯度离心法。

4. 凝胶过滤法

由于一定型号的葡聚糖凝胶或聚丙烯酰胺凝胶都具有一定大小的孔隙，只允许一定大小的分子进入到胶粒内部，而大于胶粒孔隙的大分子物质不能进入到胶粒内部而排阻。这些能进入胶粒内部的分子，用洗脱液冲洗时，按分子量大小而先后洗脱下来，分子量大的先下来，分子量小的后下来，当凝胶柱用已知分子量的物质(如蛋白质)校准后，从被测样品在洗脱中出现的先后位置，就可以求出近似的分子量。

5. 聚丙烯酰胺凝胶电泳

一般蛋白质分子在凝胶中的电泳速度取决于蛋白质分子的电荷和分子的大小，当蛋白质样品中添加硫酸十二酯钠盐(简称 SDS)后，蛋白质分子与 SDS 结合，使蛋白质分子带有足够的负电荷，原来蛋白质分子上所带的电荷变得相对地不重要了。这样的电泳过程就和凝胶过滤的作用相似，电泳速度只取决于蛋白质分子量的大小。一般凝胶电泳时，用一种染料(如溴酚蓝或甲基绿)作前沿物质。蛋白质分子移动的距离和前沿距离的比值称为相对迁移率。相对迁移率和分子量的对数成直线关系。用这种方法测定的分子量数值，误差在 ±10%。

五、蛋白质的变性

当天然蛋白质受到物理的或化学的因素影响后，改变其分子内部结构，失去原有的生物活性，并伴随着物理和化学性质的改变，但并不导致蛋白质一级结构的破坏，这种现象称为变性作用，变性后的蛋白质称为变性蛋白质。

能使蛋白质发生变性的因素很多，物理的因素如加热(约 70～100℃)、紫外线照射、X-射线、超声波、高压、剧烈振荡和搅拌等；化学的如强酸、强碱、尿素、胍、去污剂、重金属盐(如 Hg^{++}、Ag^{+}、Pb^{++} 等)、三氯乙酸、浓乙醇等都能引起蛋白质变性。但不同种蛋白质对各种因素的敏感程度是不同的。

蛋白质的变性作用，主要是由于蛋白质分子内部的结构发生改变所引起的。天然蛋白质分子内部通过氢键等次级键使整个分子具有紧密结构。变性后，氢键破坏，蛋白质分子就从原来有秩序的卷曲的紧密结构变为无秩序的松散的伸展状结构，也就是二、三级以上的高级结构发生改变或破坏，但共价键不变，一级结构没有破坏。故变性后的蛋白质结构上虽有改变，但组成成分和分子量没有改变。

在变性因素作用下，可导致各种变性现象：首先是失去生物活性。由于变性后的蛋白质分子空间结构破坏，很难保持原有的生物活性，如酶失去催化能力，血红蛋白失去运输氧的功能，抗体蛋白失去免疫作用，激素蛋白失去原有的生理功能等，这是变性作用最主要的特征。变性后的蛋白质还表现出各种物理和化学性质的改变：如结晶能力丧失；溶解度降低而沉淀，有时发生结絮凝固现象；分子形状改变，如球蛋白的不对称性增大；粘度增加；分子大小发生改变和分子内部构型改变等。这些都是由于氢键等次级键断裂，螺旋松散紊乱，肽链展开呈没有秩序的结果，使分子表面结构发生变化，亲水基团减少，原来藏在分子内部的疏水基团大量暴露在分子表面，使蛋白质颗粒不能与水相溶而失去水膜，很容易引起分子间相互碰撞发生聚集沉淀，或者随着二、三级结构的破坏，有时会发生解离或聚合现象。因此凡是能破坏次级键的因素都能引起蛋白质变性，尿素之所以是有效变性剂，就是因为尿素上有

$>$NH 和 $>$C=O，能与蛋白质肽链争夺氢键而使肽链松开发生变性。天然蛋白质中原来某些基团如巯基、酚基、咪唑基等隐藏在分子内部，一般不易测出，变性后的蛋白质肽链松散，内部侧链基团暴露，易与有关显色试剂接触，使颜色反应增强。另外，变性蛋白质也表现在生化性质的改变，如肽链松散，易被蛋白水解酶消化，比天然蛋白质消化水解的速度快很多倍，因此天然蛋白质在体内消化的第一步可能就是蛋白质的变性。

不少实验证明变性后的蛋白质能重新恢复活力，因此目前认为蛋白质变性是可逆的。但要控制好可逆变性所需的条件。

蛋白质的变性现象在日常生活和工农医实践中应用很多，如鸡蛋白加热凝固；大豆蛋白的浓溶液加热加盐制成豆腐等。临床上急救误服升汞（二氯化汞）中毒的病人，可进食大量乳品或蛋清，使 Hg^{++} 与蛋白质在胃中结合成变性的不能为消化道吸收的不溶性蛋白，从而达到解毒作用。用紫外线或酒精进行消毒灭菌是使微生物体内蛋白质变性而死亡。纺织工业上用角蛋白变性成纤维。另外，在实验工作和生产上制备某些天然状态的蛋白质制品（如疫苗、酶制剂）时，既要避免变性因素（如高温、重金属离子和剧烈搅拌等）在操作过程中引起的变性作用，同时也可以利用变性作用来专一性地去除不需要的杂蛋白，通常用加热、蛋白质变性剂，或用表面变性的方法，都可使杂蛋白变性沉淀，而所需的蛋白质则不受影响，仍留在溶液中。为停止酶的作用常用加热法或三氯醋酸使酶蛋白变性失活。临床分析化验血清中非蛋白质成分，往往用蛋白变性剂如磷钨酸等使蛋白质变性沉淀而去掉。

在生物体的生命活动中，还有不少现象是与蛋白质变性作用有关的，机体衰老时，相应的蛋白质也逐渐地缓慢地发生变性，亲水性相应减弱。一切器质性病理变化都伴随着蛋白质的变性。长期受紫外线照射而引起的白内障症主要是晶体蛋白的凝固；种子放久后蛋白质的亲水性降低而失去发芽能力，都是和蛋白质变性有关。由于变性作用主要是蛋白质高级结构的改变，因此对变性作用的研究，是阐明蛋白质高级结构与功能关系的一个重要内容。

第七节　蛋白质的种类

根据蛋白质化学组成的复杂程度和溶解度的不同，蛋白质可分单纯蛋白质和结合蛋白质二大类。单纯蛋白质水解的最终产物只有氨基酸。结合蛋白质是由单纯蛋白质和非蛋白质二部分结合而成，彻底水解后除产生氨基酸外，尚有其他化合物，如糖、脂肪、核酸、磷酸、色素等。

一、单纯蛋白质

可按其理化性质的不同而分为清蛋白（即白蛋白）、球蛋白、醇溶蛋白、谷蛋白、精蛋白、组蛋白和硬蛋白。

1. 清蛋白和球蛋白

二者在动、植物细胞及体液中普遍存在。清蛋白分子量较小，能溶于水、稀盐、稀酸及稀碱溶液中，如血清清蛋白、卵清蛋白、麦清蛋白等。而球蛋白类则不易溶于水而溶于稀盐、酸、

碱溶液，如血清球蛋白、大豆球蛋白、溶菌酶、胰岛素、甲状腺球蛋白等。这类球蛋白又名真球蛋白。

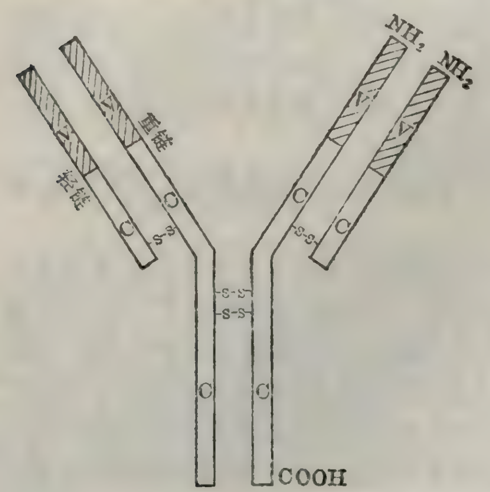


图 4-18　免疫球蛋白的肽链结构示意图

二条重链和二条轻链由二硫键联接，每条链有一个N端和一个C端，链分恒定区(C)和可变区(V)，不同Ig的氨基酸顺序不同

近年来研究很热门的免疫球蛋白也是属于球蛋白类。免疫球蛋白是一组直接参与免疫反应的抗体蛋白总称，大都属于血清γ-球蛋白，目前已知正常人的免疫球蛋白至少有5类，分别命名为IgG(免疫球蛋白G)、IgA、IgM、IgD、IgE，担任着不同的免疫功能。它们不仅存在于血液内，其他如体液、外分泌液以及某些淋巴细胞的膜上都有存在。

它们的基本结构都是由两条较长的肽链和两条较短的肽链构成的，这四条链中二条较长的链称重链(H-链)，二条较短的链称轻链(L-链)，两条重链之间借二硫键和非共价键相连，两条轻链也是通过二硫键连接在重链上。每条轻链和重链都各分为两部分，即恒定区(白色部分，用C表示)和可变区(有斜纹部分，用V表示)，图4-18为免疫球蛋白的结构示意图。迄今发现的五类Ig，彼此之间的区别就在于可变区的氨基酸排列顺序以及抗原性有所不同。免疫球蛋白的轻链(见图4-19)由213个氨基酸组成，轻链1～108位的氨基酸为可变区，目前已知其中有近70个氨基酸位置因抗体的不同而不同，易发生改变，抗原分子就是和这可变部位的顶端部分相结合的。109～213位的氨基酸为恒定区，这部分氨基酸则很少发生变化。轻链的这二部分分别通过链内的二硫键形成两个环状结构。由于免疫球蛋白分子中除氨基酸外，在重链部分还含有糖，故Ig应属于糖蛋白类。这种由四条链组成的Ig亚基，又可经共价键结合成多聚体，形成高分子量的抗体，如IgM由五个亚基组成，呈梅花形的五聚体。

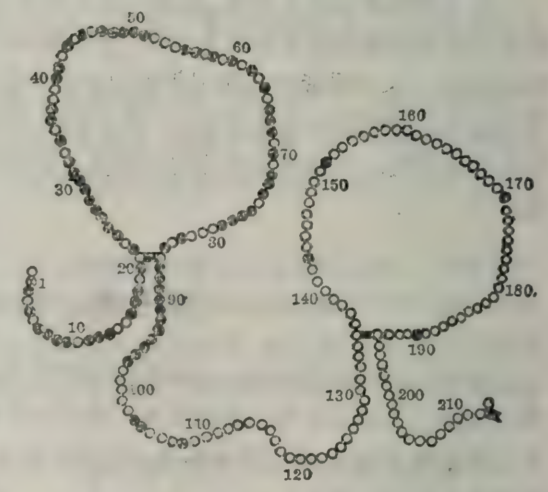


图 4-19　人的免疫球蛋白分子的轻链

○　表示迄今尚未发现过改变的氨基酸
●　表示曾经发现过二种以上变化的氨基酸
■　表示二硫键

目前研究得较清楚的是IgG，它在正常人的血清中含量最多，约占总免疫球蛋白的75～80%，每100毫升血清中含1.2克。分子量16万左右，等电点为pH5.8～7.2，在pH2.5条件下用巯基乙醇等处理，可折开二条重链之间的二硫键，使IgG分成两个相等的半分子，每半个分子具有一个抗原结合点。在有巯基化合物存在下，再用尿素处理，则进一步解离为一条重链和一条轻链，并失去结合抗原的能力。目前已有好几种IgG的重、轻链的全部氨基酸顺序已搞清楚。IgG主要由脾及淋巴结的抗体形成细胞所合成，是唯一能通过胎盘的抗体，故新生儿脐带血中都含较大量的IgG。大部分的抗菌性、抗毒性、抗病毒性抗体都属IgG类。

IgA 约占 20%，主要存在于外分泌液如鼻粘膜、唾液、初乳、眼泪、支气管和胃肠粘膜分泌液中，为局部免疫防御系统。它是由二个亚基和一个分子量为 6 万的糖蛋白通过二硫键相连成的二聚体，以保护它不受粘膜蛋白酶所水解，分子量约 39～40 万。某些慢性支气管炎患者的呼吸道分泌液中 IgA 含量较高，它对病毒有中和作用，当 IgA 分泌不足时易发生呼吸道感染等疾病。

IgM 是一种最古老的免疫蛋白，当动物进化到具有免疫功能时，首先出现的就是 IgM，在个体发育中是最先合成的。当用抗原去免疫动物时，总是先产生 IgM，然后产生 IgG，随着 G 的出现，M 的产生便被抑制。IgM 为五聚体，分子量约 90 万，又称巨球蛋白，不容易透过细胞膜，一般存在于血液中，对细菌菌体有凝结作用。

IgD 在正常人血清中含量很少，每毫升中含 0.03 毫克，分子量约 18 万。

IgE 是与过敏机制直接有关的 Ig，又称反应素。正常人血清中含量极微，每毫升含 0.1～0.4 微克，但在一些过敏反应（支气管喘息、过敏性皮炎）的病人血清中却显著增高达一倍以上。分子量约 20 万，由呼吸道、消化道、局部淋巴组织某些细胞合成。

临床应用的丙种球蛋白主要是 IgG 和少量 IgA、IgM 及其他蛋白，主要用于预防和治疗某些传染性疾病。

由于免疫球蛋白是免疫系统的关键分子，担负着对抗原的识别等功能，故对它的结构与功能研究是医学中的基本问题。

2. 醇溶蛋白和谷蛋白

存在于植物种子中，二者都不溶于水，可溶于稀酸和稀碱。醇溶蛋白能溶于 70～90% 乙醇中，如小麦胶体蛋白、玉米蛋白等，含脯氨酸和谷氨酰胺较多。而谷蛋白则不溶于乙醇，如米、麦谷蛋白（面筋）。

3. 精蛋白和组蛋白

为分子量较小、构造较简单的一类碱性蛋白质，易溶于水和稀酸，在稀氨水中沉淀，不易被热所凝固。

精蛋白缺少色氨酸和酪氨酸，含精氨酸和赖氨酸特别多，分子量仅 3000～5000。存在于成熟的精细胞中，与脱氧核糖核酸（DNA）结合在一起，如从黄鱼精中提取的鱼精蛋白，临床上是种重要止血药。

组蛋白存在于一般体细胞的细胞核中与 DNA 结合，由于组蛋白的等电点在 pH10 左右，因此带有正电荷的组蛋白与带有负电荷的 DNA 磷酸基团通过静电引力很易联结在一起。用 1*M* NaCl 溶液处理，可以把组蛋白从 DNA 上解离下来。在染色体中，组蛋白与 DNA 的重量比值接近 1，表 4-11 为几种不同来源染色体中 DNA、组蛋白和非组蛋白蛋白的含量。组蛋白分子量为 5,000～30,000，结构较精蛋白复杂，分子中含精氨酸和赖氨酸特别多。由于分子中含有酪氨酸，故可用米仑氏反应（即与汞盐和浓硝酸溶液产生红色）区别于精蛋白。

表 4-11 染色体中各种成分的比例

染色体来源	DNA	组蛋白	非组蛋白蛋白	RNA
小牛胸腺	1.00	1.00	0.75	0.009
大鼠肝脏	1.00	1.00	0.67	0.043
海胆囊胚	1.00	1.04	0.48	0.039
啤酒酵母	1.00	1.17	0.50	0.11
人体宫颈癌细胞	1.00	1.10	1.00	0.15

从真核细胞染色体得到的组蛋白，一般都由五种成分组成，即组蛋白 I(H_1)、IIb1(H_2A)、IIb2(H_2B)、III(H_3) 和 IV(H_4)。组蛋白 I 富含 Lys, IIb1 和 IIb2 稍富含 Lys，而组蛋白 III 和 IV 则含 Lys 较少而富含 Arg。表 4-12 为从小牛胸腺中得到的五种组蛋白的一些性质。目前这五种组蛋白的一级结构已被阐明。在生物进化过程中，组蛋白的保守性很强，特别是组蛋白 IV 和 III。不仅在不同组织中得到的组蛋白极为相似，就是不同物种中含有的组蛋白成分也很相似，如种属差异极大的豌豆和小牛胸腺的组蛋白 IV 的氨基酸排列顺序，仅有两个氨基酸不同。

在细胞核中，组蛋白存在于 DNA 双螺旋槽内，起抑制基因转录的作用，即阻止 DNA 链上的一些片段转录成 mRNA，由于抑制了 DNA 的部分模板，从而起控制某些蛋白质的合成作用。实验证明，当除去组蛋白后，被抑制的基因就可恢复作用。

表 4-12　小牛胸腺组蛋白的一些性质

种　　类	氨基酸组成的特征	残基数目	分子量	Lys/Arg
H_3(III)	Arg、Ala 含量多	135	15,324	0.72
H_4(IV)	Arg、Gly 含量多	102	11,282	0.79
H_2A(IIb1)	Ala、Leu 含量多	129	14,000	1.0～1.2
H_2B(IIb2)	Lys、Ser 含量多	125	13,775	2.5
H_1(I)	Lys、Ala 含量多	215	21,500	22.0

4. 硬蛋白

不溶于水和其他一般溶剂，故又称不溶性蛋白，在动物组织中起结缔保护功能，如毛、发、角、爪、筋、骨中的胶原，丝心蛋白都属之。

胶原是动物中最丰富的蛋白质，是皮肤、腱、韧带、软骨和骨中的主要组成成分。不溶于冷水、稀酸、碱和有机溶剂中，在水中加热久后就失去原有结构而成明胶。生物体中的胶原蛋白特性多种多样，在腱中具有抗张强度，在眼的角膜中它象水一样澄清透明。皮革的坚韧性和动物胶的粘性都和胶原性质有关。

胶原分子是由三条肽链互相盘绕而组成的，每条肽链约由 1000 个左右氨基酸组合而成。在胶原中有二种不常见的氨基酸，即羟脯氨酸及羟赖氨酸，约占 20% 左右，这就赋予胶原分子具有坚固性和稳定性，一般脯氨酸和羟脯氨酸的含量越高，分子对热或化学变性作用的抵抗力越强。目前研究的各种来源的胶原，都含 30% 左右的甘氨酸和 10% 左右的丙氨酸。胶原分子的每一肽链扭曲成左螺旋，三条左螺旋又通过氢键作用相互盘绕形成右旋的超螺旋，图 4-20 所示即为三链螺旋。

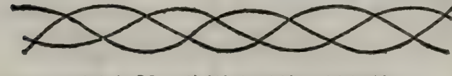


图 4-20　胶原分子的三链螺旋

当胶原分子加热后，三链螺旋结构松开，成为肽链结构不规则盘绕的明胶分子，能溶于热水，呈亲水胶体。制胶工业上应用各种动物皮中的胶原熬制成的明胶，用途很广。某些先天性畸形、风湿病引起的残废以及衰老的某些变化，骨胳和关节的严重残废性畸形等，都是由于胶原过量生成或不正常的配置所致。

二、结合蛋白质

根据非蛋白质部分的成分不同而有以下几类:

1. 核蛋白

一切生物中都有,由蛋白质与核酸组成,如上述动植物细胞核中的核蛋白由 DNA 和组蛋白结合而成。

2. 粘蛋白和糖蛋白

由蛋白和糖类物质组成。广布于生物界,存在于粘液和血液等体液、皮肤、软骨和其他结缔组织中,如唾液中的粘蛋白即由粘多糖和蛋白质组成。从孕妇尿中提取得到的绒毛膜激素、卵清蛋白都属于糖蛋白。粘蛋白中含糖量在 4% 以上,糖蛋白中含糖量在 4% 以下。

3. 脂蛋白

由蛋白质和脂类结合而成,存在于线粒体、微粒体、细胞膜和动物血浆中。

通常脂类均能溶于乙醚,而脂蛋白则不溶于乙醚而溶于水,因此血液中脂蛋白成为脂类的运输方式。血液中游离脂肪酸绝大部分与清蛋白结合,而脂肪、胆固醇、磷脂等则以不同比例,主要与球蛋白结合成不同的脂蛋白,在血液中运输。

根据血浆脂蛋白的比重和电泳速度可分为 α-脂蛋白(也称高密度脂蛋白,简写 HDL)、β-脂蛋白(也称低密度脂蛋白,简写 LDL)、前 β-脂蛋白(也称极低密度脂蛋白,简写 VLDL)和乳糜微粒四部分。在电泳图谱中,α-脂蛋白出现在 α_1-球蛋白位置,β-脂蛋白出现在 β-球蛋白位置,前 β-脂蛋白出现在 α_2-球蛋白位置,乳糜微粒因粒子大,电泳时停留在原点。这四种脂蛋白的分子量及化学组成各不相同,见表 4-13。

表 4-13 人血浆脂蛋白的分子量及化学组成

血浆脂蛋白	代号	分子量(万)	化学组成(干重%)				
			蛋白质	胆固醇	胆固醇酯	磷脂	脂肪
α-脂蛋白	HDL	10～40	50	2	20	24	4
β-脂蛋白	LDL	100～300	23	10	36	21	10
前 β-脂蛋白	VLDL	500～1000	10	5	13	20	52
乳糜微粒		10^4～10^6	2	2	4	5	87

近年来发现糖尿病人常有前 β-脂蛋白含量的增高,甲状腺机能衰退和胆道阻塞病人常表现为 β-脂蛋白升高,动脉粥样硬化和冠心病患者 β-脂蛋白亦常出现含量增高的情况。总之脂蛋白含量的异常,反映出脂类代谢的改变,因此临床上常测定血浆脂蛋白的含量来用于诊断某些疾病。

4. 色蛋白

由蛋白质和色素组成的色蛋白种类很多,其中以含卟啉类的色蛋白尤为重要,血红蛋白就是由珠蛋白和铁卟啉(即血红素)组成的,过氧化氢酶、细胞色素 c 都是由蛋白质和铁卟啉组成的。含核黄素的黄素蛋白也属色蛋白,它们都是生物氧化过程中重要的酶。血红蛋白中的血红素结构如下:

图 4-21　血红蛋白中血红素的结构

5. 磷蛋白

由蛋白质和磷酸组成，磷酸往往与丝氨酸或苏氨酸侧链的羟基结合，如胃蛋白酶。乳中酪蛋白即为磷蛋白，含有许多磷酸丝氨酸。

第五章　核酸的化学

第一节　核酸的一般概念

核酸是生物体的基本组成物质，从高等的动、植物到简单的病毒都含有核酸。它在生物的个体发育、生长、繁殖、遗传和变异等生命过程中起着极为重要的作用。恩格斯关于生命定义中所指的“蛋白体”，从现代生物学观点看来，就是蛋白质和核酸的复合体。

核酸最早是在1869年由瑞士人米歇尔(F. Miescher)发现的，他从包裹伤口绷带上的脓细胞中分离出细胞核，再从细胞核中提取得到一种可溶于碱而不溶于稀酸并含磷极多的酸性物质。1872年又从其他来源如莱茵河的鲑鱼精子中制得类似物质。以后奥特曼(Altmann)等人也相继从酵母细胞和动物组织如胸腺中也得到类似的物质，知道这种物质是所有被研究过的细胞和组织的正常组成部分，并命名为核酸。核酸的发现虽然很早，但长期来对它的生物功能是没有认识的。

早年研究的核酸主要来源是酵母和小牛胸腺。由于发现大多数动物来源的核酸与胸腺中的核酸相似，从植物来源的核酸与酵母中的核酸相似，因此有人把核酸分为动物核酸和植物核酸。以后随着细胞化学和分离新技术的应用，发现这二类核酸是一切动植物细胞的正常成分，存在于同一细胞内。由于细胞核内的核酸和胸腺核酸相似，而细胞质的核酸和酵母核酸相似，于是又有人把核酸分为染色体核酸和细胞质核酸。但随着科学进展，分析技术更精确，发现这样分法也不妥当，因为在细胞核内也含有与细胞质核酸相似的核酸。现在是根据核酸的化学组成把核酸分为二大类：含有核糖的称核糖核酸，简称RNA，含有脱氧核糖的称脱氧核糖核酸，简称DNA。这两类核酸在生物细胞内一般都是与蛋白质相结合，以核蛋白的形式存在。

DNA主要存在于细胞核中，是染色体的主要成分，但细胞核外也有少量存在，如线粒体DNA、叶绿体DNA和质粒DNA，甚至细胞膜上也有微量的DNA。RNA主要存在于细胞质的核糖体和上清液中，而线粒体和叶绿体中也有存在。至于细胞核中，RNA则大部分集中在核仁上，某些动物组织和啤酒酵母的染色体中也有少量RNA存在。在病毒中，多数细菌病毒(噬菌体)属于DNA病毒，如大肠杆菌噬菌体T2、T5、ϕX174等；少数如噬菌体MS2、Qβ则属RNA病毒。植物病毒极大部分为RNA病毒，常见的如烟草花叶病毒、黄瓜花叶病毒、水稻矮缩病毒、玉米矮缩病毒等，但从60年代初发现了第一个DNA植物病毒即花椰菜花叶病毒以来，相继又发现了五种肯定的DNA病毒，如大丽菊花叶病毒、马铃薯卷叶病毒等，都属DNA病毒。动物病毒中，有的属DNA病毒如多瘤病毒、疱疹病毒、痘病毒、腺病毒等，有的属RNA病毒如呼肠孤病毒、脊髓灰白质炎病毒(即小儿麻痹病毒)、流感病毒和劳氏肉瘤病毒等。至于1971年才命名的类病毒是不含外壳蛋白仅由RNA组成的，从已发现的类病毒来看，都属于小分子的RNA，如马铃薯块茎纺锤病类病毒、柑桔剥皮病类病毒等。

核酸的生物功能是什么呢？由于以前对核酸的重要性认识不足，因此对它的研究进展很慢。从发现核酸这一物质起，经过70多年后才相继有一些比较直接的实验，使人们对核酸的生物功能逐步有所了解。

1944年埃弗利(Avery)等人发现S型肺炎双球菌的转化因子是DNA，首次证明DNA是遗传物质。肺炎双球菌外面通常包有一层粘性的多糖荚膜，能形成光滑型的菌落，简称S型，这种多糖荚膜具有致病能力；而肺炎双球菌的变异株没有多糖荚膜，形成表面粗糙的不光滑的菌落，简称R型，它不具致病能力。现在知道R型变异株就是由于缺少了一种能氧化尿二磷葡萄糖(简称UDPG)成为尿二磷葡萄糖醛酸的脱氢酶，从而缺少了形成多糖荚膜的组成成分。

当时埃弗利等从经加热杀死的S型肺炎双球菌的抽提液中分离纯化得一种物质，加入到没有荚膜的R型球菌的培养基中，结果使原来没有荚膜的R型菌转化成有荚膜的S型菌，而且这种具有荚膜的性状可以继续遗传繁殖下去，产生有荚膜的后代，这种现象称为转化作用，能引起转化的物质称为转化因子。以后经过纯化和仔细研究反复证实，这种物质既不是多糖也不是蛋白质，而是DNA。这实验说明：产生荚膜这一性状的遗传物质是DNA，从而揭示了核酸的生物功能。这一事实进一步促使人们对细菌转化的研究，发现这种转化现象在很多细菌、放线菌中都能产生，愈来愈多的事实证明DNA是遗传性状的载体，亲代的性状可以通过DNA传到下一代。

1952年美国赫希(A. Hershay)和恰赛(M. Chase)用同位素标记法研究T2噬菌体的感染作用，证明T2噬菌体的DNA带有全部遗传信息。T2由DNA的核和蛋白质的外壳构成的。当它感染大肠杆菌后，在菌体内大量复制、溶菌，而产生出成百个子代噬菌体。负载有T2遗传信息的物质是蛋白质还是DNA呢？他们先分别用^{32}P和^{35}S去培养T2，分别得到DNA由^{32}P标记的和外壳蛋白质由^{35}S标记的T2噬菌体，然后用这两种标记的T2分别去感染大肠杆菌，经短期培养后将菌体悬浊液离心，分析结果，绝大部分^{32}P存在于菌体中而绝大多数的^{35}S存在于上清液中，说明T2感染细菌时只有DNA(含^{32}P)进入菌体内，而外壳蛋白(含^{35}S)留在菌体外面。在短时间内这种感染了T2(^{32}P)的菌体，就复制繁殖并释放出许多T2来，这些新增殖出来的T2具有与原来T2一样的外壳蛋白。可见在T2感染繁殖过程中，只有DNA是连续的物质，载有遗传信息的物质是DNA而不是蛋白质。以后又发现含RNA的植物病毒中，遗传信息的载体是RNA。

随着对核酸生物学作用研究、生产的发展和新技术的应用，人们对核酸的结构和组成分析也有了较大进展。到五十年代，有人运用精确的层析法，测定了核酸的碱基组成，指出核酸中四种碱基的比例差异很大，不是1:1:1:1，屏弃了认为核酸是由四种单核苷酸单调重复排列起来的错误的“四核苷酸”假说。1953年华特生和克里克在总结前人工作的基础上提出了DNA双螺旋结构的立体模型，为阐明核酸是生物体遗传和变异的物质基础提供了科学依据，进一步推动了分子生物学特别是分子遗传学的发展，加深了对核酸的结构和生物学功能的研究。以后进一步知道了核酸所携带的遗传信息是以密码的形式贮存在核酸自身结构即核苷酸排列顺序中；并通过DNA自身的半保留复制把遗传信息一代一代传递下去；而遗传信息则通过指导蛋白质合成而表现出各种遗传性状，即生物体内蛋白质是在核酸所携带的遗传信息指导下合成的，核酸上有什么遗传信息，就决定合成什么样的蛋白质，有什么样的蛋白质就导致表现出什么样的遗传性状。目前核酸的研究正处在一个飞速发展的时

期，在核酸的一级结构测定和高级结构研究方面也取得了很大进展，由于某些核酸一级结构的阐明，使人工合成核酸方面的工作也取得了成绩。

核酸的结构和功能的研究，是当前分子生物学研究的主要内容之一，它对阐明遗传和变异的本质是十分重要的。同时在解决肿瘤的发生和治疗、病毒的感染和防治、辐射损伤、分子病和选种育种等实际问题上也起着重要的指导作用。近几年来出现的新领域——“基因工程”，即在试管中进行人工重组 DNA，将有可能创造出自然界原来没有的新品种，使核酸科学的理论研究和实际应用进入一个崭新的重要阶段。

第二节　核酸的化学组成及其化学结构

核酸和蛋白质一样是分子量很大的高聚物，它的基本单位是核苷酸，是由上百个甚至几千万个核苷酸聚合而成的长链，这种长链又称多聚核苷酸。根据核酸的生物功能和化学结构可将它分为二大类，即脱氧核糖核酸(DNA)和核糖核酸(RNA)，它们的基本化学结构可用图 5-1 表示，当图中的 R＝H、R′＝CH_3 时为 DNA，R＝OH、R′＝H 时为 RNA。

用不同的水解方法可使核酸分别降解为低聚多核苷酸、核苷酸以及磷酸、碱基、戊糖等。下面介绍核酸的组成成分。

图 5-1　DNA、RNA 的结构

DNA (R=H, R′=CH_3)　　RNA (R=OH, R′=H)

一、核酸的水解产物

(1) DNA、RNA 在强酸作用下完全水解，得到磷酸、戊糖和碱基三种组分。DNA 中的戊糖是 D-2-脱氧核糖，RNA 中的戊糖是 D-核糖；DNA 中的碱基是腺嘌呤（用符号 Ade 表示）、鸟嘌呤(Gua)、胞嘧啶(Cyt)和胸腺嘧啶(Thy)。RNA 中的碱基是 Ade、Gua、Cyt 和尿嘧啶(Ura)。因此，DNA 和 RNA 在化学成分上的区别在于 DNA 中含有 D-2-脱氧核糖和 Thy，而 RNA 含有 D-核糖和 Ura。表 5-1 为 DNA 和 RNA 完全水解后的产物。

(2) 当核酸进行不完全水解时，可得到低聚多核苷酸和核苷酸。

低聚多核苷酸为分子量较小的多核苷酸片段，又称寡核苷酸，一般由二十个以下核苷酸组成，可进一步水解成核苷酸。

在稀碱条件下，RNA 可水解成四种含不同碱基的核糖核苷酸。用酶法可以将 DNA 水

解成四种含不同碱基的脱氧核糖核苷酸。每一种核苷酸都由等分子的核糖（或脱氧核糖）、磷酸和某一种碱基所组成。

核苷酸还可以进一步水解得到核苷和磷酸，核苷是由戊糖和碱基组成的。当用稀酸处理时嘌呤核苷酸上嘌呤易水解下来。

表 5-1　DNA 和 RNA 完全水解的产物

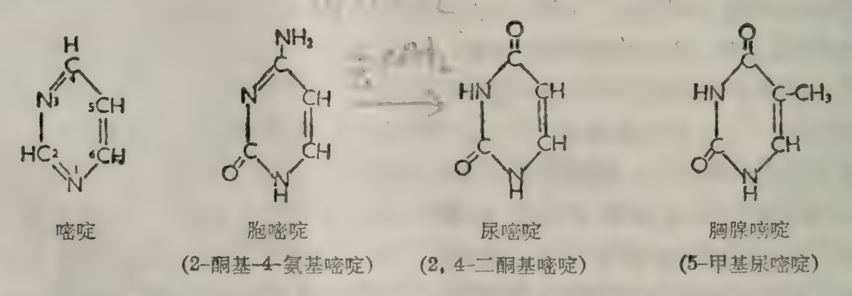
组　　分	核　酸　类　别	
	DNA	RNA
磷　　酸	磷　　酸	磷　　酸
戊　　糖	D-2-脱氧核糖	D-核　糖
碱　　基	腺 嘌 呤	腺 嘌 呤
	鸟 嘌 呤	鸟 嘌 呤
	胞 嘧 啶	胞 嘧 啶
	胸腺嘧啶	尿 嘧 啶

二、水解产物的化学结构

1. 碱基

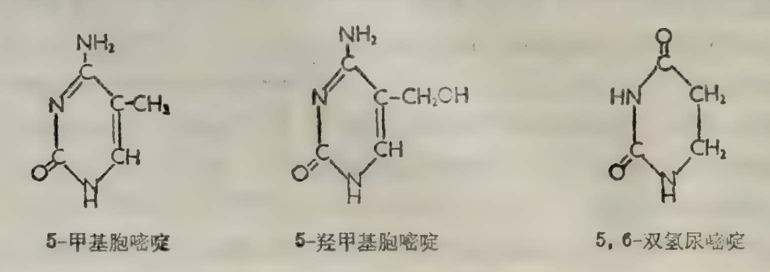
为一类含氮的杂环化合物，又可称含氮碱，具弱碱性。核酸中的碱基有两类，即嘌呤和嘧啶的衍生物。

(1) 嘧啶　　用符号 py 表示，为含二个氮原子的杂环。DNA、RNA 中最常见的嘧啶衍生物有三种，即胞嘧啶、尿嘧啶和胸腺嘧啶。它们都是在嘧啶 2 位碳原子上由酮基取代 H，在 4 位碳原子上由氨基或酮基取代 H 而成的。结构式中的原子编号是 1965 年开始采用的统一编号。



嘧啶　　胞嘧啶（2-酮基-4-氨基嘧啶）　　尿嘧啶（2, 4-二酮基嘧啶）　　胸腺嘧啶（5-甲基尿嘧啶）

除上述三种主要的嘧啶衍生物外，在核酸中还含有多种修饰成分，其中修饰嘧啶碱种类



5-甲基胞嘧啶　　5-羟甲基胞嘧啶　　5, 6-双氢尿嘧啶

很多，如小牛胸腺的 DNA 中含有少量 5-甲基胞嘧啶；大肠杆菌 T6、T2、T4 噬菌体的 DNA 中有 5-羟甲基胞嘧啶代替了胞嘧啶；转运 RNA 中含有二氢尿嘧啶等。

凡含有酮基的嘧啶或嘌呤碱，在溶液中可以发生酮式和烯醇式的互变异构现象。结晶状态时，为这两种异构体的等量混合物。在生物细胞内一般是以酮式存在，这对于核酸分子中氢键结构的形成是非常重要的。下面为尿嘧啶的互变异构反应式：

酮式（2，4-二氧嘧啶）　　烯醇式（2，4-二羟基嘧啶）

(2) 嘌呤　用符号 pu 表示，DNA 和 RNA 中主要的嘌呤衍生物为腺嘌呤和鸟嘌呤。它们都是嘌呤的 2 位或 6 位碳原子上 H 被氨基或酮基取代而成的。

嘌呤　　腺嘌呤（6-氨基嘌呤）　　鸟嘌呤（2-氨基-6-酮基嘌呤）

此外在核酸中还发现多种修饰嘌呤碱，如转运 RNA 中的 N^6-甲基腺嘌呤、7-甲基鸟嘌呤等。

N^6-甲基腺嘌呤　　7-甲基鸟嘌呤

生物体内还有其他一些嘌呤衍生物，如次黄嘌呤、黄嘌呤和尿酸等，为某些动物的代谢物。一些植物的生物碱如咖啡碱也属嘌呤衍生物。

次黄嘌呤　　黄嘌呤　　尿酸　　咖啡碱

核酸中的嘌呤和嘧啶碱都是无色的固体，熔点高，大都在 200～300°C。在有机溶剂中溶解度很小，在水中溶解度也不大，一般都溶于稀酸或稀碱中。

2. 戊糖

RNA 中含 β-D-核糖，DNA 中含 β-D-2-脱氧核糖。

D-核糖
(直链式)

β-D-核糖
(呋喃式)

D-2-脱氧核糖
(直链式)

β-D-2-脱氧核糖
(呋喃式)

在某些 RNA 中含有少量的 β-D-2-O-甲基核糖，是核糖 2 位羟基上的氢被甲基取代而成的。大肠杆菌双数噬菌体中还发现有葡萄糖和甘露糖，它们是连在 5-羟甲基胞嘧啶的羟甲基上的。

3. 磷酸

DNA 和 RNA 都含有一定量的磷酸，每一个核苷酸含有一个磷原子。磷酸是个三元酸，它有三级解离，$pK_1=1.97$，$pK_2=6.82$，$pK_3=12.44$，当磷酸生成单酯或二酯后，酸性增强。

4. 核苷

由碱基和核糖(或脱氧核糖)缩合而成。RNA 中的核苷称核糖核苷(或称核苷)，DNA 中的核苷称脱氧核糖核苷(或称脱氧核苷)。实验证明，核糖(或脱氧核糖)的第 1 位碳原子与嘧啶的第 1 位氮原子相连成嘧啶核苷(或嘧啶脱氧核苷)，与嘌呤的第 9 位氮原子相连成嘌呤核苷(或嘌呤脱氧核苷)。这些核苷所形成的糖苷键都是 β-型。

从 RNA 来的核苷主要有腺嘌呤核苷(或称腺苷)、鸟嘌呤核苷(或称鸟苷)、胞嘧啶核苷(或称胞苷)、尿嘧啶核苷(或称尿苷)，可分别用 A、G、C、U 单字符号表示。它们的结构式如下：

腺嘌呤核苷 A
(9-β-D-核糖腺嘌呤)

鸟嘌呤核苷 G
(9-β-D-核糖鸟嘌呤)

尿嘧啶核苷 U
(1-β-D-核糖尿嘧啶)

胞嘧啶核苷 C
(1-β-D-核糖胞嘧啶)

从 DNA 得到的脱氧核苷主要有腺嘌呤脱氧核苷(或称脱氧腺苷)、鸟嘌呤脱氧核苷(或称脱氧鸟苷)、胞嘧啶脱氧核苷(或称脱氧胞苷)、胸腺嘧啶脱氧核苷(或称脱氧胸苷)，分别用 dA、dG、dC、dT 符号表示。

关于核酸的成分除前面已讲的主要组成外，近年来由于核酸水解条件的改进、高效分离方法的应用和灵敏的微量测定技术的发展，陆续发现核酸中还含有大量修饰成分，包括前面讲到的修饰碱基，修饰核苷和修饰核苷酸，已发现有 70 多种以上，这些成分是天然存在的，不是人工修饰的，因含量相对较少故又称稀有成分。主要是在碱基上甲基化、乙酰化、硫代、甲硫代以及带有各种侧链。

由修饰碱基和核糖（或脱氧核糖）组成的核苷、由非修饰碱基和 2-O-甲基核糖组成的 2′-O-甲基核苷以及由非修饰碱基与核糖在连接方式上与众不同的如假尿苷都称为修饰核苷。

修饰核苷的缩字符号：如为 A、G、C、U 衍生物时，则将碱基取代基、取代位置和取代基数目写在核苷单字符号左面，取代基用小写英文字母表示，这字母右上方表示取代基位置，右下方为取代基数目，如 m^1A 表示 1-甲基腺苷，m_2^2G 表示 N^2，N^2-二甲基鸟苷，S^4U 表示 4-硫代尿苷，少数修饰核苷用单字符号表示，肌苷用 I 表示，5，6-二氢尿苷用 D 或 hU 表示，假尿苷用 ψ 表示。核苷符号右边为糖的取代甲基，用字母 m 表示，如 m^4Cm 为 N^4，2′-O-二甲基胞苷。

修饰成分大部分存在于转运 RNA 中，且在 tRNA 分子上分布很有规律。核糖体 RNA 中含较多 2′-O-甲基核苷以及少量甲基化核苷等。真核细胞中 mRNA 除含有少数 m^6A 外，通常含有帽子结构如 $m^7G(5')_{ppp}$（N^7-甲基鸟苷三磷酸），（5′）表示三磷酸连在核苷 5′ 位上。

上面讲到的假尿苷 ψ，又称 5-β-D 核糖尿嘧啶，它的核糖是与尿嘧啶的第 5 位碳原子相连，这种 C—C 糖苷键比一般的 N—C 糖苷键要稳定，不易被酸水解。它在转运 RNA 中含量较高，可达 4%。

核苷是无色的晶体，熔点很高，不溶于有机溶剂，嘧啶核苷在水中的溶解度较嘌呤核苷为大。在核苷中 N—C 糖苷键对碱较稳定，而对酸不稳定，易被酸水解。而各种核苷被酸水解的程度又不同，脱氧核糖核苷比核糖核苷容易水解，嘌呤核苷比嘧啶核苷容易被酸水解。

假尿嘧啶核苷 ψ

（5-β-D-核糖尿嘧啶）

5. 核苷酸

核苷酸由核苷与磷酸缩合而成，为核苷的磷酸酯。核糖核苷的磷酸酯称核糖核苷酸或核苷酸，脱氧核糖核苷的磷酸酯称脱氧核糖核苷酸或脱氧核苷酸。

用碱法或酶法水解 RNA 得到的四种核苷酸即腺嘌呤核苷酸（简称腺苷酸，用符号 AMP 表示）、鸟嘌呤核苷酸（鸟苷酸，GMP）、胞嘧啶核苷酸（胞苷酸，CMP）、尿嘧啶核苷酸（尿苷酸，UMP）。DNA 用酶法水解得到的四种脱氧核苷酸为腺嘌呤脱氧核苷酸（简称脱氧腺苷酸，用符号 dAMP 表示）、鸟嘌呤脱氧核苷酸（脱氧鸟苷酸，dGMP）、胞嘧啶脱氧核苷酸（脱氧胞苷酸，dCMP）、胸腺嘧啶脱氧核苷酸（脱氧胸腺苷酸，dTMP）。下面为 RNA 经 5′-磷酸二酯酶水解所得的四种 5′-核苷酸的结构：

5′-腺苷酸 （5′-AMP）

5′-鸟苷酸 （5′-GMP）

5′-尿苷酸 (5′-UMP)　　　　5′-胞苷酸 (5′-CMP)

这些核苷酸的磷酸基都连接在核糖的第5位碳原子上，故为5′-核苷酸。

RNA的核糖在2、3、5位上都有一个自由羟基，能各自与磷酸缩合以酯键相连，形成三种核苷的磷酸酯。如RNA的腺苷酸，当磷酸与核糖的第5位碳原子上羟基缩合时为5′-腺苷酸（用5′-AMP表示），磷酸连接在核糖第3或2位碳原子上时，分别为3′-AMP或2′-AMP。至于DNA中的脱氧核糖，由于第2位碳原子上没有羟基，因此与磷酸缩合形成的只有3′-及5′-脱氧核苷酸。

2′-腺苷酸 (2′-AMP)　　　　3′-腺苷酸 (3′-AMP)

核苷酸结构也可用下面简式表示（B表示嘌呤或嘧啶碱，直线表示戊糖，P表示磷酸基）。

2′-核苷酸　　3′-核苷酸　　5′-核苷酸

第三节　细胞内游离核苷酸及其衍生物

在生物体内，核苷酸除了作为核酸基本组成单位外，还有一些核苷酸自由存在于细胞

内，具有重要的生理功能。

5'-腺苷酸又称腺一磷(通常用 AMP 表示)，AMP 可以进一步磷酸化，形成腺嘌呤核苷二磷酸(简称腺二磷)和腺嘌呤核苷三磷酸(简称腺三磷)，分别用 ADP 和 ATP 表示。ADP 由 AMP 与一分子磷酸结合而成，ATP 由 AMP 与一分子焦磷酸结合而成。它们的化学结构如下：

腺嘌呤核苷二磷酸 (ADP)　　　腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP)

这类化合物中磷酸之间的焦磷酸键含有很高能量，称为高能键，用 ~ 表示，每克分子高能键含键能 12000 卡，是生物体内能量利用和贮存的主要物质。

ATP、ADP 在体内分布很广，在细胞浆中浓度比较恒定，一般为 2～10 微克分子/克胞浆。在线粒体和细胞核中也有存在，在代谢活跃的细胞中 ATP 浓度＞ADP、AMP。

ATP 是生物体内能量的主要传递者。生物必须从环境中获得能量才能生存，植物通过光合作用利用太阳的辐射能；异养生物则利用食物中的糖类等有机物进行氧化、还原分解反应时释放的能量。不管用哪种方式来获得能量，都是先将这些能量转换成 ATP。需要能量时，ATP 分子上的高能键水解，将贮存在高能键上的能量释放出来，供生物活动用。这些能量可用来参与许多合成反应，克服渗透压的障碍，主动转运无机离子和营养物通过膜结构或用作肌肉收缩的机械力如心脏收缩、肠胃蠕动等。

生物体内除了有 ATP、ADP 外，其他的 5'-GMP、CMP、UMP 也同样可以进一步磷酸化形成核苷二磷酸和三磷酸，如 GDP、CDP、UDP 和 GTP、CTP、UTP，它们都以游离状态存在。同样，5'-脱氧核苷一磷酸也可以进一步磷酸化形成相应的脱氧核苷二磷酸和三磷酸，如 dADP、dGDP、dCDP、dTDP 和 dATP、dGTP、dCTP、dTTP。

生物体内还有一些参与代谢作用的辅酶和辅基，如烟酰胺腺嘌呤二核苷酸、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸酯、黄素单核苷酸、黄素腺嘌呤二核苷酸和辅酶 A 等都是核苷酸的衍生物。

近年来不少工作报道，在生物细胞中普遍存在着一类环状核苷酸，其中以 3', 5'-环状腺苷酸(简称环腺一磷或 cAMP)研究最多。它是由腺苷酸上磷酸与核糖的 3', 5' 碳原子形成双酯环化而成，其中 3' 位的磷酸酯键为高能键，水解后可释放自由能 11.9 千卡/克分子。它的结构式如右所示。

正常细胞中 cAMP 的含量很低，在细胞膜上腺苷酸环化酶和 Mg^{++} 作用下，可催化细胞中 ATP 脱去一分子焦磷酸而环化

成 cAMP，使细胞内的 cAMP 浓度升高。但形成的 cAMP 又可被细胞内专一性的磷酸二酯酶水解成 5′-AMP。故细胞内 cAMP 的浓度受到这两种酶活力的控制，这两种酶控制着 cAMP 生成和水解速度，从而使细胞内 cAMP 维持一定浓度。

$$\text{ATP} \xrightarrow{\text{腺苷酸环化酶}} \underset{\text{＋焦磷酸}}{\text{cAMP}} \xrightarrow{\text{磷酸二酯酶}} 5'\text{-AMP}$$

cAMP 性质较稳定，耐热，在机体中分布很广，从低等微生物到高等哺乳动物的各细胞组织中都有，但含量甚低，如哺乳动物组织中，每公斤含 cAMP 0.2～1.5 微克分子，仅为 ATP 量的 1/10,000～1/1000。

据目前所知 cAMP，是生物体内的基本调节物质。为一具有传递激素作用的媒介物，不少激素的作用就是通过 cAMP 去进行的，它起着所谓“第二信使”的作用；对很多酶所催化的反应具有调节作用，可调节细胞内贮藏糖和脂肪反应中的一系列酶的活性；另外，对蛋白质生物合成也具有调节控制作用。近年来发现，cGMP 也具有调节作用。

第四节　核酸的结构

核酸是生物高分子聚合物，它的基本单位是核苷酸。常见的核苷酸种类虽然只有 4 种，但由于 DNA、RNA 都是大分子化合物，各种核酸中的核苷酸少到 70 多个，多到几千万个，而且都是按照一定的排列顺序相连而成的，因此核酸的种类很多。它和蛋白质一样，有一定的化学结构和空间结构。

一、核酸分子中单核苷酸之间的连接方式

DNA、RNA 都是由许多核苷酸通过磷酸二酯键将前一个核苷酸与后一个核苷酸相连起来，形成无分枝的多核苷酸链。实验证明，核苷酸之间是通过 3′—5′ 连接的，磷酸二酯键一方面与前一个核苷酸的戊糖上 3′ 位的羟基脱水相连，同时又与后一个核苷酸的戊糖上 5′ 位上羟基脱水相连，如此鱼贯联接，即可成为一个多核苷酸的长链。左面为 RNA 分子中一段由五个核苷酸组成的多核苷酸链的结构，核苷酸之间是由 3′，5′-磷酸二酯键相连的，末端磷酸基与核苷相连的键称为磷酸单酯键。书写多核苷酸链时，通常从 5′ 端到 3′ 端，由左向右表示。

多核苷酸链可用下面简式表示：

也可用 $_{(5')}pA_pC_pG_pU_pA_{(3')}$ 或 $_p$A-C-G-U-A 表示。A、G、C、U 代表各种核苷，P 或“-”代表磷酸基，P 或“-”在核苷右下方表示磷酸在糖的 3′ 位上酯化，在左下方则表示在糖

的 5′ 位上酯化。为简化起见，核苷酸链中的 P 可省略，或在核苷之间加小点，用 $_{p}ACGUA_{OH}$ 或 $_{p}A \cdot C \cdot G \cdot U \cdot A_{OH}$ 表示。

在多核苷酸链两端的核苷酸为末端核苷酸，当该核苷酸的核糖 5′ 位为磷酸单酯或游离羟基时，这一端称为多核苷酸链的 5′-末端，若 3′ 位为磷酸单酯或游离羟基，则称为多核苷酸链的 3′-末端。

二、核酸的水解

在研究核酸的结构以及用核酸来制备核苷酸时，都要进行核酸的水解。水解的方法有酶法、酸法和碱法，用不同方法进行水解，所得产物也不同。

核酸水解的第一步就是拆开连接核苷酸之间的磷酸二酯键，成为单核苷酸或分子量较小的低聚多核苷酸。水解磷酸二酯键时，可以有二种情况，如下面所示：当切在 a 处得到 5′-核苷酸，切在 b 处则得到 3′-核苷酸。

A C U G A
a a a a
P P P P P P
b b b b

1. 核酸酶所催化的水解作用

一般把水解核酸的酶称核酸酶，由于能切开核苷酸之间的磷酸二酯键，故又称磷酸二酯酶。这类酶作用时有二种情况。

有些酶作用于核酸链内部的键，可将多核苷酸链切成片段，称内切酶，又称核酸解聚酶或核酸磷酸二酯酶，如牛胰核糖核酸酶即属之。

还有些酶从多核苷酸链的一端开始，连续地切下一个个单核苷酸，这种酶称外切酶，或称磷酸二酯酶，如蛇毒磷酸二酯酶、牛脾的磷酸二酯酶。

至于有些酶只能切除核苷酸或寡核苷酸末端的磷酸单酯键得到磷酸，这种酶称磷酸单酯酶或核苷酸酶。

下面扼要介绍几种常见的核酸酶。

牛胰核糖核酸酶(RNase A)：是具有一定专一性的内切酶，能专一性地切开多核苷酸链中 3′-嘧啶核苷酸的磷酸基与相邻核苷酸之间的酯键，即切开 3′-嘧啶核苷酸的第二磷酸酯，水解过程要经过嘧啶核苷 2′，3′-环状磷酸的中间物，最终产物为 3′-嘧啶核苷酸和以 3′-嘧啶核苷酸为末端的嘌呤低聚核苷酸等。此外，这酶还能水解 5-甲基胞嘧啶、二氢尿嘧啶、假尿嘧啶核苷酸的 3′-磷酸基与相邻核苷酸 5′-羟基之间的酯键。

如下面这段由十六个核苷酸组成的多核苷酸链，经 RNase A 作用后，得到 6 个 3′-嘧啶单核苷酸，一个二核苷酸，一个三核苷酸和一个五核苷酸，这三个低聚核苷酸结尾都是 3′-嘧啶核苷酸，其余组分都是嘌呤核苷酸。

$$A_pC_pC_pC_pC_pA_pC_pG_pG_pU_pU_pU_pA_pG_pU_pC_p$$

$$\downarrow \text{RNase A}$$

$$A_pC_p + A_pG_pG_pG_pU_p + A_pG_pU_p + 4C_p + 2U_p$$

此酶的特点是稳定性高，100°C 下处理 30 分钟仍有 80% 的活力，最适温度为 65°C，在一个较大的 pH 范围内是稳定的，最适 pH 为 7.7。在提取大分子 RNA 时，必须注意防止此酶的作用。

RNase T_1：是由米曲霉培养物制备得到的，和 RNase A 一样是目前在 RNA 结构分析中不可缺少的工具酶。RNase T_1 能专一性地切开 3′-鸟苷酸与相邻核苷酸之间的磷酸酯键，产生 3′-鸟苷酸和末端带有 3′-鸟苷酸的低聚核苷酸。此外还能切开黄嘌呤、次黄嘌呤、二甲基鸟嘌呤核苷酸与相邻核苷酸 5′-羟基之间的酯键。

从蛇的毒液中得到的蛇毒磷酸二酯酶(VPDase)：是种外切酶，既能水解 RNA 也能水解 DNA，产生 5′-核苷酸，故通常用来制备 5′-核苷酸。它的主要作用是从多核苷酸链的 3′-羟基端开始，逐个切开 5′-核苷酸与邻近核苷酸相连的酯键，即 5′-核苷酸的第二磷酸酯键，使 RNA 或 DNA 水解成 5′-核苷酸或 5′-脱氧核苷酸。由于此酶能专一性地从 3′ 端切下 5′-核苷酸，故广泛用于核酸的一级结构测定。从桔青霉培养得到的 5′-磷酸二酯酶与蛇毒磷酸二酯酶的作用相似，也能将 DNA 及 RNA 水解成 5′-核苷酸，没有碱基专一性。它的作用一般也是从链的 3′-羟基端开始逐个切下 5′-核苷酸，当链的 5′ 端带有磷酸单酯，3′ 端为羟基时作用最快。此酶作用的最适 pH 为 5～6，有很高的水解活性。由于蛇毒磷酸二酯酶来源少，生产上常用培养桔青霉得到此酶来制备 5′-核苷酸，并广泛应用于核酸的研究方面。

脾磷酸二酯酶(SPDase)：也属外切酶，但此酶是从 RNA 或 DNA 链的 5′-羟基端开始作用，逐个地切开 3′-核苷酸的第二磷酸酯键，使核酸水解成 3′-核苷酸，当多核苷酸链的 3′ 末端带有磷酸单酯时，催化作用最快。

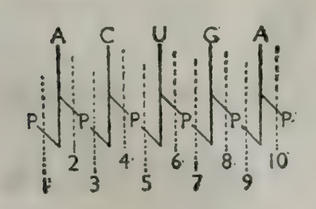


图 5-2　几种酶的作用示意图
(虚线表示被酶切开处)

上述几种酶的作用可用图 5-2 表示，一条含有二个腺苷酸、一个胞苷酸、一个尿苷酸和一个鸟苷酸，并在两端具有磷酸单酯的五核苷酸链，当被 RNase A 作用时在 5 及 7 位置切开；被蛇毒磷酸二酯酶或桔青霉磷酸二酯酶作用时，在 2, 4, 6 和 8 位切开；被脾磷酸二酯酶作用时，切在 3, 5, 7 和 9 位；被 RNase T_1 作用时在 9 位切开；5′-单酯酶在 1 位切开；3′-单酯酶在 10 位切开。

近年来在某些细菌中发现的 DNA 限制性内切酶，是研究 DNA 的核苷酸排列顺序和开展遗传工程的重要工具酶。这类酶具有高度专一性，能识别并切断外源 DNA 分子上特异的核苷酸排列顺序部位的酯键，使 DNA 双链产生“缺口”。这样，外源 DNA 就能进一步被 DNase 水解，从而限制了外源性 DNA 在菌体细胞中复制。因此这类酶是细菌对外来入侵的 DNA 的一种防御机构，对细菌起着保护作用。目前以大肠杆菌和嗜血流感菌中的这类酶研究得最多，例如从大肠杆菌 Ry13 菌株提出的 Eco RI、Eco RII，嗜血流感菌的 Hind III，它们的专一性特点和应用将在第十四章进一步介绍。

2. 碱水解

在稀碱条件下，RNA 很容易水解得到 2′-核苷酸和 3′-核苷酸。上面已讲到，RNA 分

子中核苷酸之间是以 3′—5′ 酯键连接的，水解后似乎不应产生 2′-核苷酸，那末为什么用稀碱法水解 RNA 会得到 2′-核苷酸呢？这是由于在稀碱水解过程中易发生这样一个反应：即先要形成一个中间环状物 2′, 3′-环状核苷酸（一般用 >P 表示，如 2′, 3′-环状腺苷酸用 A>P 表示)，它在碱性条件下很不稳定而进一步水解，就可得到 2′ 和 3′-核苷酸(图 5-3)。常用的稀碱水解条件中，KOH（或 NaOH）的浓度因温度和作用时间的不同而异。如 1N KOH(或 NaOH)在 80℃ 下作用 1 小时就能使 RNA 水解成单核苷酸，同样用 0.3N KOH (NaOH) 在 37℃ 下作用 16 小时以及用 0.1N KOH (NaOH) 在 100℃ 下作用 20 分钟也都可以使 RNA 水解为单核苷酸。

图 5-3 RNA 碱水解示意图

上述反应为 RNA 所特有的，在同样的稀碱条件下，DNA 虽然变性，但并不会被水解成单核苷酸，这是因为 DNA 的脱氧核糖 2′ 位上没有羟基，没有形成环状物的可能。因此在测定 DNA 和 RNA 含量时，可用这个反应把它们分开。含 DNA 和 RNA 的混合液在上述稀碱条件下作用一定时间后，RNA 水解成 2′ 及 3′ 的单核苷酸，DNA 不发生上述反应而成 DNA 钾盐，进一步酸化后，来自 RNA 的单核苷酸溶于上清液中，而 DNA 则沉淀下来，分别测定 DNA 和 RNA 的含磷量，就可求得 DNA 和 RNA 的含量。生产上从 RNA 制取 2′ 及 3′-核苷酸常用稀碱法。

3. 酸水解

在酸性条件下，DNA、RNA 都不稳定，嘌呤碱易水解下来。用 1N HCl 在 100℃ 下加热 1 小时，就能把 RNA 水解成嘌呤碱和嘧啶核苷酸的混合物；用 12N 高氯酸在 100℃ 下处理 1 小时可把 DNA、RNA 完全水解成各种嘌呤、嘧啶等基本组分。但高氯酸对胸腺嘧啶有破坏，使回收率偏低。在低温的酸性条件下，DNA、RNA 则较稳定。

三、核酸的一级结构及其研究方法

核酸的一级结构是指核酸分子中核苷酸的排列顺序。前面已讲到核酸的生物功能是携

带和传递生物的遗传信息：遗传信息通过指导蛋白质生物合成而表现出生物的各种遗传性状。而核酸分子上所携带的遗传信息，即是以密码形式编录在核酸分子的核苷酸排列顺序上。因此研究核酸分子的核苷酸排列顺序是极为重要的。

核酸的一级结构研究开始得比蛋白质晚。由于转运 RNA（代号 tRNA）的分子量小，较易分离纯化。自 1965 年 Holley 等人首先测定了一种从酵母中提取的丙氨酸 tRNA 的一级结构（见图 5-10）以来，tRNA 结构的研究进展甚快，目前已有一百几十种 tRNA、某些细胞核的 RNA、多种核糖体 RNA 以及一些病毒 RNA 的一级结构已搞清楚。1976 年费尔斯（Fiers）等人又完成了大肠杆菌噬菌体 MS2 的 RNA 分子全部 3569 个核苷酸的排列顺序测定，这是第一个被测定的天然的、有完整自我复制能力并包括全部基因的 RNA 分子的一级结构（MS2 RNA 一级结构详见第十五章）。这个 RNA 分子含有三个结构基因，即 A 蛋白基因、外壳蛋白基因和复制酶基因，从 5′ 端到 3′ 端顺次排列组成线性结构，如图 5-4 所示。

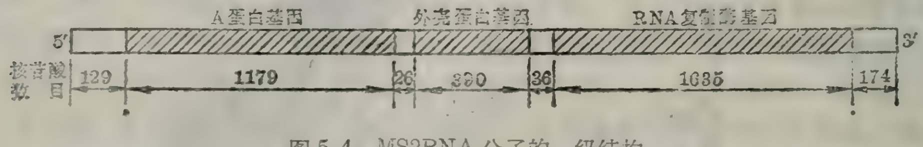


图 5-4　MS2RNA 分子的一级结构

在 A 蛋白基因前面有 129 个核苷酸的不翻译部分；3′ 末端有 174 个核苷酸的尾巴；在三个基因之间有二个与核糖核蛋白体结合的不翻译的部位称为结合点。实验证明 MS2A 蛋白的氨基酸排列顺序，完全与 MS2 A 蛋白基因中核苷酸排列顺序相对应（详见第十五章）。

DNA 分子量很大，脱氧核苷酸数目多，故结构测定原来进展较慢。但近几年来由于相继发现了许多专一性很强的 DNA 酶，研究出了测定 DNA 核苷酸序列的快速、简便的方法，使 DNA 一级结构的研究进展极快。1977 年桑格（Sanger）等人完成了由 5375 个脱氧核苷酸组成的噬菌体 ϕX 174 的单链 DNA 的全部脱氧核苷酸的排列顺序的测定。1978 年费尔斯又完成了肿瘤病毒 SV40 DNA 分子的全部一级结构，是由 5224（或 5226）个核苷酸组成。目前已有更多的 DNA 一级结构被阐明。

在核酸一级结构测定方法上有片段重迭法、逐个降解法和物理学方法等。下面简要介绍片段重迭法测定 RNA 一级结构的大致步骤：第一，RNA 分子先用专一性酶（如牛胰 RNase A、RNase T_1 等）水解成各种大小的寡核苷酸片段；第二，进行寡核苷酸片段的分离，常用的方法为各种层析法和电泳法；第三，测定各寡核苷酸的碱基组成和核苷酸排列顺序；第四，RNA 分子再用另外一些专一性核酸酶，降解成较大的寡核苷酸片段，分离和测定其核苷酸组成和排列顺序。将所得结果，根据重迭区来推导出更大片段的核苷酸顺序，最后确定整个 RNA 的核苷酸排列顺序。例如要测定一个七核苷酸链的序列，今先用 RNase A 和 RNase T_1 分别水解，得到的片段组成分别测得其核苷酸序列，结果如下：

RNase A 水解得到 U、C、G、AGAC

RNase T_1 水解得到 UCAG 和 ACG

从上结果可知这七核苷酸链的序列应为 UCAGACG。

分子量小的寡核苷酸的排列顺序测定时，先经碱水解和核苷酸分离，确定其核苷酸组成，然后再分析序列。对于一个由 G_P 和 U_P 组成的二核苷酸来讲，如果是 RNase T_1 的降解物，则从它的组成就可确定它的排列为 U_PG_P，即 G_P 一定在 3′ 端位置。如这个二核苷酸是

RNase A 的降解物，则此二核苷酸的3′端一定是嘧啶核苷酸，它的排列为G_pU_p。对于三个核苷酸以上的寡核苷酸，先可根据它是 RNase T_1 还是 RNase A 的降解物，就可确定它的3′端是鸟嘌呤还是嘧啶，然后再用 VPDase 处理，确定它的5′端核苷，就可知这三核苷酸的排列顺序。对四核苷酸同样可用上述方法先确定核苷酸组成及5′端，如果是 RNase T_1 降解物，组成为 A_3G，则其排列只可能是 $A_pA_pA_pG_p$。若组成为 A_2UG，就有三种可能(即 $A_pA_pU_pG_p$，$U_pA_pA_pG_p$ 和 $A_pU_pA_pG_p$)。则先经 VPDase 处理，如果其5′端为 U，则排列必为 $U_pA_pA_pG_p$；如5′端为 A，则就有二种可能性，即 $A_pA_pU_pG_p$ 或 $A_pU_pA_pG_p$，这时可用 RNase A 处理，当产物为二个二核苷酸时，则其排列为 $A_pU_pA_pG_p$，如产物为 G_p 和一个三核苷酸，则其排列顺序必为 $A_pA_pU_pG_p$。更复杂的寡核苷酸，就需用其他外切酶来处理。

四、DNA 的结构

1. DNA 的分子量、分子形状及其在细胞内的含量

DNA 的分子量很大，一般在 10^6～10^9 道尔顿，不同来源的 DNA 分子量差别很大。如多瘤病毒的 DNA 分子量只有 3×10^6 道尔顿，由 4.6×10^3 碱基对(通常用 bp 符号表示)组成(即核苷酸对数目，每对分子量 660 左右)，长度为 1.6×10^4 Å(即 1.6 μm)。从大肠杆菌染色体中得到的双链 DNA 分子量为 2.3×10^9 道尔顿，含 3.4×10^6 碱基对，外观长度为 1.2×10^7 Å(即 1.2 mm)，已进入肉眼可见的范围。至于真核细胞的 DNA 分子量更大。例如，果蝇大染色体 DNA 分子量为 4.3×10^{10}，含 6.2×10^7 碱基对，长度为 2.1 cm。

绝大多数 DNA 为双链，只有少数病毒仅在生命循环中有一段时间是单链形式，如大肠杆菌噬菌体 ϕx174 在病毒颗粒时为单链型，进入菌体后要形成双链型才能进行复制。其他小噬菌体如 S13、M13、fd 都有类似情况。

DNA 分子的形状，过去认为都是线形的，以后相继发现有些小病毒(如噬菌体 ϕX174、M13、G4、fd)、某些动物病毒(如多瘤病毒)、各种类型的质粒、大肠杆菌染色体以及真核细胞的线粒体和叶绿体中的 DNA 分子都是成环状的，真核细胞的染色体 DNA 呈线形。还有些病毒的 DNA 可以环形和线形互变，如 λ 噬菌体 DNA 在病毒颗粒内是线形，在寄主菌体内则变成环形。

分析各种生物细胞中 DNA 的含量，发现不同生物种之间细胞核 DNA 的含量差别很大，但同一物种不同组织的体细胞核 DNA 的含量却十分恒定，而含单倍数染色体的精细胞核中 DNA 含量约为同种生物的体细胞核中 DNA 的一半，这是很有意义的。表 5-2 为鸡的某些组织的细胞核 DNA 的含量。

表 5-2　鸡细胞核中 DNA 含量

组　织	DNA 量(pg/细胞核)
肝　脏	2.6
脾　脏	2.6
红血球	2.6
心	2.5
胰	2.61
精细胞	1.3

不同物种之间体细胞 DNA 含量变动很大，一般 DNA 的含量往往与生物的复杂性有相应关系，即愈复杂的生物，遗传信息量愈大，需要有更多的遗传物质——DNA。从表 5-3 可知，生物进化程度愈高，每个细胞中 DNA 含量也愈高，高等哺乳动物单个细胞中 DNA 含量要比细菌高出近千倍。

表 5-3　一些生物细胞和病毒的 DNA 含量

生物材料	DNA (pg/细胞或病毒)	核苷酸对数目 (百万)	生物材料	DNA (pg/细胞或病毒)	核苷酸对数目 (百万)
噬菌体 λ	0.00008	0.05	鳞斜纹蟹精子	1.49	1,400
噬菌体 T_4	0.00024	0.17	鸭	2.6	2,400
大肠杆菌	0.0047	4	鲤　鱼	3.5	3,300
啤酒酵母	0.07	70	狗	5.3	5,000
海　绵	0.1	100	马	5.8	5,500
腔肠动物(水母精子)	0.33	300	人	6.0	5,600
棘皮动物(海胆精子)	0.9	800	高等植物	2.5	2,300
软体动物	1.2	1,100			

2. DNA 的碱基组成和碱基克分子比例

1950 年以来，有人用水解法和层析法对多种生物的 DNA 碱基进行了分析，发现 DNA 的碱基组成有一定规律。大量数据表明：

(1) 来自不同生物的 DNA 碱基组成是不同的，而来自同一种生物的不同器官和组织的 DNA 的碱基组成基本上相同。

(2) 根据对大量不同来源的 DNA 碱基分析结果表明，各种生物的碱基克分子比例都有一定规律性，从表 5-4 可看到这些规律是：腺嘌呤和胸腺嘧啶的克分子数目相近，即 $Ade \doteq Thy$(或 $A \doteq T$)；鸟嘌呤和胞嘧啶的克分子数目相近，即 $Gua \doteq Cyt$(或 $G \doteq C$)。因此 $A+G=T+C$，即嘌呤的总数等于嘧啶的总数；$A+C=T+G$，即含氨基的碱基总数等于含酮基的碱基总数。这些碱基克分子比例的规律，对于 DNA 双螺旋的形成是非常重要的。至于 ϕX174DNA 中腺嘌呤和胸腺嘧啶以及鸟嘌呤和胞嘧啶不是等克分子，这是因为 ϕX174DNA 是单链。

表 5-4　不同来源的 DNA 碱基组成

(数据来自不同作者)　　　　(克分子 %)

DNA 来源	腺嘌呤 Ade	鸟嘌呤 Gua	胞嘧啶 Cyt	胸腺嘧啶 Thy	5-甲基胞嘧啶 (m^5 Cyt)	$\frac{嘌呤数}{嘧啶数}$	$\frac{Ade}{Thy}$	$\frac{Gua}{Cyt+m^5Cyt}$
牛胸腺	28.2	21.5	21.2	27.8	1.3	0.99	1.01	0.96
大白鼠骨髓	28.6	21.4	20.4	28.4	1.1	1.00	1.00	1.00
麦　胚	27.3	22.7	16.8	27.1	6.0	1.00	1.01	1.00
酵　母	31.3	18.7	17.1	32.9	—	1.00	0.95	1.09
大肠杆菌噬菌体 T_5	30.3	19.5	19.5	30.8	—	0.99	0.98	1.00
结核分枝杆菌(人)	15.1	34.9	35.4	14.6	—	1.00	1.03	0.99
噬菌体 ϕX174	24.3	24.5	18.2	32.3	—			
牛　肝	28.8	21.0	21.1	29.0		0.98	0.99	1.00
人　肝	30.3	19.5	19.9	30.3		0.99	1.00	0.98

根据 DNA 中各种碱基的含量，可将它分为二大类，含腺嘌呤和胸腺嘧啶较多的为 "A-T" 型；含鸟嘌呤和胞嘧啶较多的为 "G-C" 型，多数 DNA 是 "A-T" 型的。

从上述 DNA 碱基克分子比例的规律可知，当知道了一种碱基的克分子百分比，就可以知道其余三种碱基的百分比。DNA 的碱基组成常用(G+C)% 来表示。同一种生物的不同器官组织中 G+C 的含量是恒定的，而不同生物之间则差别很大，G+C 含量高的 DNA 密度大、比重大、融解温度也高。

3. DNA 的双螺旋结构

根据 DNA-钠盐结晶的 X-射线衍射分析以及碱基克分子比例规律，1953 年华特生和克里克提出了 DNA 的双螺旋结构学说，说明了 DNA 的二级结构。它的要点是：DNA 分子是一个右旋的双螺旋结构（见图 5-5），由两条多核苷酸链以相反的方向（即一条由 3′→5′，另一条由 5′→3′）平行地围绕着同一个轴，右旋盘曲成一双链螺旋，螺旋每盘旋一圈有 10 对核苷酸，高度为 34 Å；这两条多核苷酸链的骨架是由糖和磷酸组成的，糖和磷酸基在链的外侧，而碱基在链的内侧（见图 5-6）；这二条链通过它们碱基间的氢键连接在一起，从而维持双螺旋的空间结构；4 种碱基互相形成氢键是有一定规律的，都是由腺嘌呤与胸腺嘧啶以氢键相连成 *Ade:Thy* 对（或用 *A-T* 对表示），由鸟嘌呤与胞嘧啶以氢键相连成 *Gua:Cyt* 对（用 *G-C* 对表示）（如图 5-7），即一条链上的腺嘌呤与另一条链上的胸腺嘧啶，一条链上的鸟嘌呤与另一条链上的胞嘧啶通过氢键相连。

由于双螺旋结构上碱基之间的氢键配对不是随意的，总是 *Ade* 对 *Thy*，*Cyt* 对 *Gua* 这个原则，因此二条链的碱基是互补的，从一条链中碱基的排列顺序就可以决定与它互补的另一条链的碱基顺序。DNA 就是由带有遗传信息（核苷酸排列）的两条互补链所组成的。

碱基配对的规律十分重要，是遗传信息传递的关键，在 DNA 复制过程中有着重要意义。这些规律的形成不是偶然的巧合，而是由 DNA 双螺旋空间结构和形成氢键的条件所决定的。

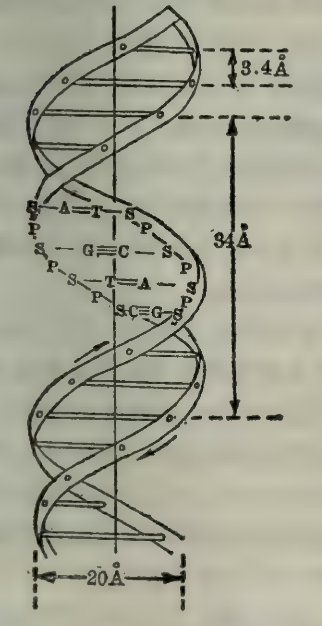


图 5-5 DNA 的双螺旋结构示意图
（两条带表示磷酸-糖链，横棍条表示连接两条链的碱基对）

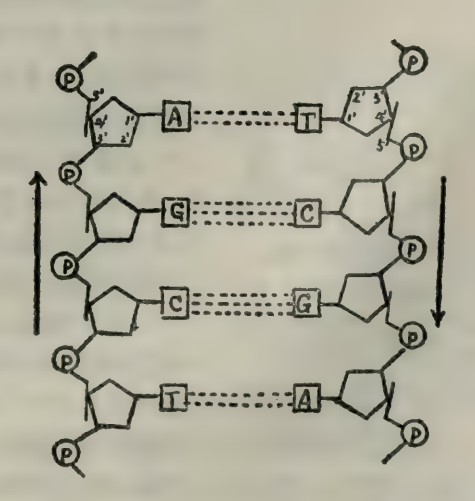


图 5-6 DNA 中多核苷酸链的一部分示意图

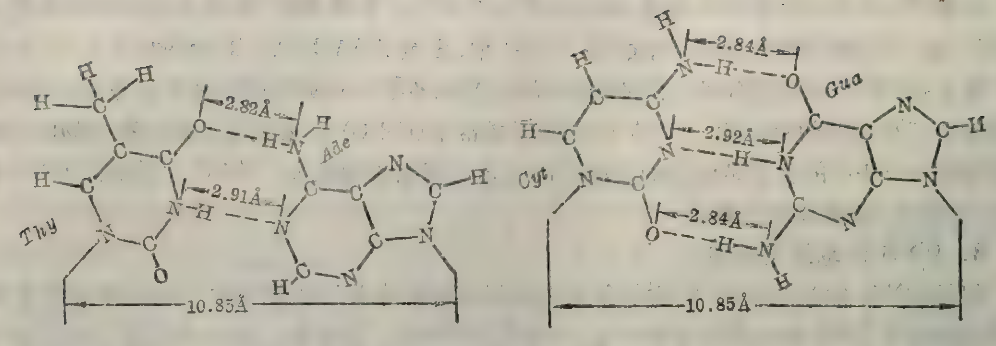


图 5-7　碱基配对示意(虚线为氢键)

1953 年以来，人们又分析了不同生物的 DNA 结构，如大肠杆菌、肺炎球菌、鱼精子、哺乳动物脏器腺体、白细胞、淋巴细胞等的 DNA 结构，都证实是双螺旋结构。至 1969 年，更有人直接用电镜观察到这种结构。

近年来的研究认为，使 DNA 双螺旋结构稳定的主要因素不仅是碱基对之间的氢键，氢键对螺旋的稳定作用是比较微弱的．起稳定作用的主要因素是碱基堆积力。由于碱基是疏水性的，这种非极性的碱基纵向堆积成有次序的螺旋时，在碱基各原子之间发生相互吸引的静电引力或范德华引力等，从而使螺旋结构稳定。

根据 DNA 双螺旋结构的学说，可以解释 DNA 是生物体遗传和变异的物质基础，用核酸的"半保留"复制理论解释核酸所携带的遗传信息是怎样传递给子代的。由于 DNA 是染色体的主要成分，是遗传信息的载体，当细胞分裂时，先是 DNA 的两条链松开，然后分别以二条链为模板，按 A 对 T、G 对 C 的配对规律，从细胞中摄取相对应的脱氧核苷酸，在 DNA 聚合酶的催化下，各自合成出一条与原来模板对应的新链，使一个 DNA 分子复制成二个与原来一样的 DNA 分子(图 5-8)。随着细胞的分裂，二个新形成的 DNA 分子就带着相同的遗传信息分别进入二个子细胞，从而保证了亲代性状传到子代，保证了亲代与子代的相似性。由于在这种复制过程中，子细胞保留了一条旧的链，故称之为半保留复制，已用同位素实验证实了这个复制机制。

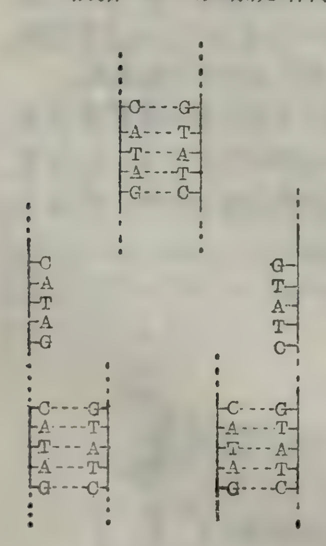


图 5-8　DNA 的半保留复制过程示意图

DNA 的一部分双链分开，在每条链上形成一条新的单链

任何事物都有二重性。遗传和变异也是对立统一的二重性，只有遗传而没有变异就无法解释生物界的千差万异，生物的进化也就不可能。据此，以后又提出由于在复制合成新的 DNA 过程中速度相当惊人，难免发生某些差错，另外生物体内的 DNA 受到地球上某种化学或物理诱变因素的影响，也会引起脱氧核苷酸的碱基发生变化，或脱氧核苷酸的缺失等，使脱氧核苷酸排列顺序发生改变，以后复制出来的 DNA 也发生改变，从而造成性状变异。

DNA 的双螺旋结构为 DNA 的二级结构。当双螺旋的链扭曲，再次形成螺旋结构称为 DNA 的三级结构，例如闭环 DNA 分子的超螺旋，核小体中的 DNA 的扭曲方式，都属于三级结构的构象。

五、RNA 的结构

每一种 RNA 都有一定的核苷酸排列顺序和二、三级结构。对 RNA 结构的研究近年来进展甚快。

1. RNA 的类型

除了在某些病毒中以 RNA 直接作为遗传信息的载体外，在各种生物的活细胞中，根据其功能和性质的不同，都含有以下三种 RNA：

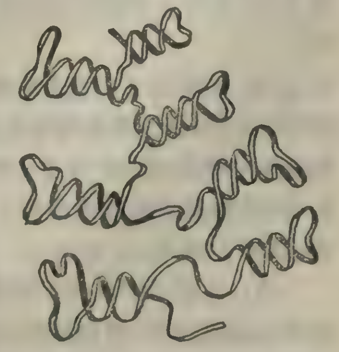
(1) 信使 RNA(mRNA)　占细胞中 RNA 总量的 5% 以下，它是以 DNA 为模板，在 RNA 聚合酶的催化作用下合成的，故它的碱基组成和 DNA 相对应。分子量一般为 0.5×10^6 或更高些。mRNA 是蛋白质合成的模板，在蛋白质合成时，mRNA 结合到核糖体上传递 DNA 的遗传信息，决定蛋白质肽链中氨基酸排列顺序。原核生物中 mRNA 寿命很短，在蛋白质合成后不久就分解。如大肠杆菌 mRNA 的半衰期只有几分钟，而真核细胞 mRNA 寿命较长。

(2) 核糖体 RNA(rRNA)　约占活细胞中 RNA 总量的 80%，是细胞质中核糖体的组成成分，故名之。核糖体又称核糖核蛋白体，是一些直径为 10～20 μm 的微小颗粒。rRNA 约占核糖体的 60%，其余 40% 为蛋白质。在真核类中 rRNA 在细胞核内合成后，与蛋白质颗粒相结合后从膜小孔进入细胞质，行使功能。核糖体是蛋白质合成的主要场所，它由大小两个亚基所构成，原核生物的核糖体由 30S 和 50S，真核生物的由 40S 和 60S 的亚基组成。每个亚基都有特定的 rRNA 和蛋白质所组成，如原核生物的大亚基(50S)是由 23S 和 5S 的 rRNA 与 34 种蛋白质组成。在蛋白质合成过程中，mRNA 只有结合到核糖体上后，才能起模板作用。多个核糖体结合在 mRNA 链上，就成为多聚核糖体的复合物。

(3) 转运 RNA(tRNA)　约占全部 RNA 的 15%，通常以游离状态存在于细胞质中，分子量低，仅 25,000～30,000，在细胞质内呈可溶性状态，故又称可溶性 RNA(sRNA)。它的功能是在蛋白质合成时，携带一定的氨基酸，把氨基酸转运到核糖体的 mRNA 上。它既能读取 mRNA 上碱基排列的遗传密码，又能识别各种氨基酸。

2. RNA 的二级结构和 tRNA 的结构

生物体内多数 RNA 分子不具双链螺旋而呈单链。但由于分子内部有互补区，即根据 A 对 U、G 对 C 的配对规律，使单链分子能自身反向折迭在链内形成氢键。在形成氢键的互补区段可以进一步扭转，产生一个至数个较短的双螺旋区构象(图 5-9)。一般 RNA 具有 40～70% 的螺旋区。由于 RNA 分子内存在一些较短的双螺旋区，因此也具有一些与 DNA 同样的特性，例如变性作用、解链温度等。


图 5-9　RNA 的二级结构示意
(有几个螺旋区)

此外有少数病毒如水稻矮缩病毒、呼肠孤病毒、伤瘤病毒等的 RNA 具有类似于 DNA 的双螺旋结构。

生物体内的 tRNA 种类很多，每一种生物细胞至少有 40 种以上的 tRNA，蛋白质含有 20 种氨基酸，而每一种氨基酸都有一种以上的 tRNA，各具有特定的结构。每种 tRNA 根

据所转运的氨基酸而命名之，如转运丙氨酸的称丙氨酸-tRNA（或 $tRNA^{Ala}$）。目前已确定全部核苷酸排列顺序的一百几十种 tRNA，它们的结构虽大同小异，但核苷酸的数目、种类、排列顺序却各不相同，由 73～93 个核苷酸组成。例如从酵母中提取的 $tRNA^{Ala}$ 由 77 个核苷酸组成，$tRNA^{Ser}$ 为 85 个，$tRNA^{Tyr}$、$tRNA^{Phe}$、$tRNA^{Val}$ 又分别依次由 78、76、77 个核苷酸组成。它们的核苷酸都有一定顺序排列。即使携带同一种氨基酸的 tRNA，但只要来源于不同生物，它们的核苷酸排列也是不同的，从酵母、大肠杆菌和麦芽中得到的 $tRNA^{Phe}$，都由 76 个核苷酸组成，但各种核苷酸比例和排列顺序是各不相同的。

1965 年，有人根据酵母丙氨酸 tRNA 的核苷酸排列顺序和碱基配对规律，提出了 tRNA 多核苷酸链在平面卷曲成三叶草型的二级结构模型，迄今已研究的一百多种 tRNA 的一级结构，都符合于三叶草型的模型，图 5-10 为 $tRNA^{Ala}$ 结构示意。这类三叶草型的结构都有以下几个特点：

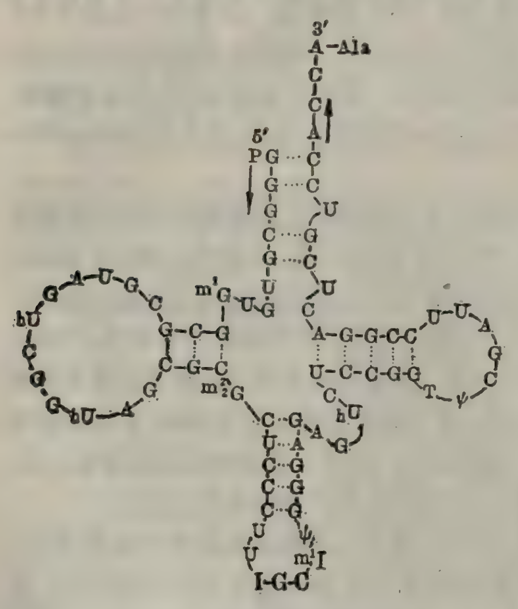


图 5-10　酵母 $tRNA^{Ala}$ 的结构

反密码子用黑体字表示

(1) 多核苷酸链分子内形成氢键的碱基对都是 A 对 U，G 对 C，形成氢键的部位称臂。不能形成氢键的区段就形成环状突起，称突环。

(2) 这模型中的三叶草柄称为氨基酸臂，由 3′ 末端和 5′ 末端附近的碱基配对而成，在 3′ 末端都是 $\cdots C_PC_PAOH$，携带的氨基酸就连在这 3′-OH 上，成

$$_PC_PC_PA{-}O{-}\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}{-}\overset{\overset{\displaystyle NH_2}{|}}{C}H{-}R_o$$

(3) 三叶草柄的对面称反密码子突环，由 7 个碱基组成，其中有三个碱基代表着某种氨基酸的反密码子，正巧与密码子（见十五章）相对应，如苯丙氨酸的反密码子为 $^{5'}GAA^{3'}$，相对应的密码子为 UUC，丙氨酸的反密码子为 $^{5'}IGC^{3'}$，密码子为 $GC\begin{smallmatrix}U\\C\\A\end{smallmatrix}$（I 可与 U、C、A 成对）。

(4) 右臂上有一由 7 个碱基组成的环，称为 GTψC 突环（与核糖体的结合有关），大多数的 tRNA 在这环中都有 GTψC 这样一段顺序。左臂有一个由 8～12 个碱基组成的大突环，因都含有双氢尿嘧啶（D）故称 D 突环。

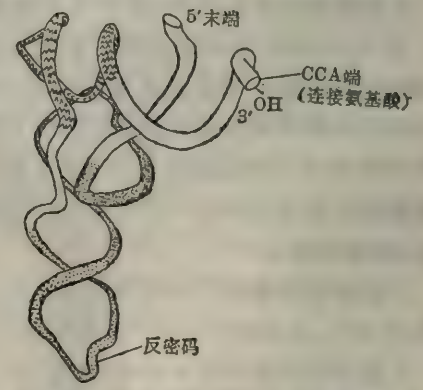


图 5-11　酵母 $tRNA^{Phe}$ 的立体结构示意

(5) 这些 tRNA 分子中都含有多种稀有的修饰核苷如假尿核苷、双氢尿苷、胸腺核苷、1-甲基肌苷（m^1I）、1-甲基鸟苷（m^1G）、N^2-二甲基鸟苷（m^2_2G）等，在每种 tRNA 中含量不一，少则 2、3 个，多则十几个。这些修饰核苷在 tRNA 分子中分布于

一定部位，有一定规律性，并和 tRNA 的功能有关(详见十五章)。

1974 年，有人根据 X 光衍射的分析结果，阐明了酵母苯丙氨酸 tRNA 的三级结构模型(见图 5-11)，整个结构的外形基本上是由 2 个双螺旋区组成的倒 L 型，两端为氨基酸臂和反密码子，GTψC 环和 D 环恰好在转弯角上，这个结构模型有力地支持了二级结构的三叶草模型。

第五节　核酸和核苷酸的理化性质和分析测定

一、一般理化性质

RNA 和核苷酸的纯品都呈白色粉末或结晶，DNA 则为白色类似石棉样的纤维状物。除肌苷酸、鸟苷酸具鲜味外，核酸和核苷酸大都呈酸味。

DNA、RNA、核苷酸都是极性化合物，一般，这些化合物都溶于水而不溶于乙醇、氯仿等有机溶剂，它们的钠盐比游离酸易溶于水，RNA 钠盐在水中的溶解度可达 4%。分子量在 10^6 以上的 DNA 和双螺旋的病毒 RNA 在水中浓度达 1% 以上时，成具粘性的胶体溶液。在酸性溶液中，DNA、RNA 和核苷酸分子上的嘌呤易水解下来，分别成为具有游离糖醛基的无嘌呤核酸和磷酸酯。在中性或弱碱溶液中较稳定。

DNA、RNA 在生物细胞内大都是与蛋白质结合成核蛋白，DNA-蛋白和 RNA-蛋白在盐溶液中的溶解度受盐浓度的影响而不同。DNA-蛋白在低浓度盐溶液中，如在 0.14 M 的 NaCl 溶液中溶解度最低，仅为在水中溶解度的 1%，几乎不溶解。但随盐浓度的增加而溶解度也增加，在 1 M 的 NaCl 溶液中的溶解度很大，要比纯水高 2 倍。而相反 RNA-蛋白在盐溶液中的溶解度受盐浓度的影响较小，在 0.14 M 的 NaCl 溶液中溶解度较大，因此在核酸提取时，常用此法来分离这二种核蛋白。

DNA、RNA 和核苷酸既有磷酸基，又有碱性基，故为两性电解质，在一定的 pH 条件下，可以解离而带电荷，因此都有一定的等电点，能进行电泳。核酸由于酸性较强，能与 Na^+、K^+、Mg^{++} 等金属离子结合成盐，也易与碱性化合物结合成复合物，如能与甲苯胺蓝、派罗红、甲基绿等碱性染料结合，其中甲苯胺蓝能使 RNA 和 DNA 二者均染上蓝色，而派罗红专染 RNA 成红色，甲基绿专染 DNA 成绿色，故细胞组织化学中利用此性质用于染色。

近年来应用较广的菲锭溴红(或称溴乙锭)荧光染料(3, 8-二氨基-5-乙基-6-苯基菲锭溴盐，简称 EB)，由于它能插入到核酸碱基对之间，因此它与双链的 DNA 以及具有双链螺旋区的 RNA 有特异的结合能力，使 EB-核酸络合物的荧光强度比游离 EB 显著增加达 80～100 倍。因此在一定条件下，一定浓度的 EB 溶液的荧光增量与核酸双链区的浓度成正比，根据这原理，可用来测定双链核酸的浓度，灵敏度高达 0.01 微克/毫升。

核酸具有旋光性，旋光方向为右旋，由于核酸分子的高度不对称性，因此旋光性很强，这是核酸的一个重要特性，如 DNA 的比旋值为 $[\alpha]_D = 150°$，比组成它的单核苷酸的比旋值要大得多，当核酸变性时，比旋值就大大降低。

二、核酸的变性

核酸和蛋白质一样有变性现象。双螺旋的 DNA 和具有双螺旋区的 RNA 溶液，在一定条件下受到某些物理或化学的因素作用，会发生变性，二级结构改变，氢键切断，碱基的规律堆积破坏，双螺旋松散成为二条缠绕的无定形的多核苷酸链，发生了从螺旋向无规则卷曲(或称线团 Coil)的转变。核酸变性时，先是局部双螺旋松散，解旋，然后整个双螺旋松散解旋，当变性条件继续，则二条链脱解而分离成不规则卷曲的单链，但一级结构不发生破坏。当变性因素去除后，在变性的 DNA 多核苷酸链内或链间会形成局部的氢键结合区。在一定条件下，相互补的二条链可以完全可逆地重新结合，恢复成原来的双螺旋 DNA 分子。

引起核酸变性的因素如加热，氢离子浓度变化，某些变性试剂如脲素、胍和某些有机溶剂等因素都会使核酸发生变性。变性后的核酸生物活性丧失，如细菌的 DNA 转化活性明显下降，同时也表现在物理化学性状的改变，如粘度下降，沉降系数增加，比旋光值降低以及紫外光吸收能力显著增加的"增色效应"等特点。

由于线形的 DNA 双螺旋分子极大，很不对称，因此天然 DNA 溶液具有很高的粘度，它的分子旋转半径很大。变性后的 DNA 氢键切断，双链分开，各分子链自由旋转的自由度增加，同时失去原有双螺旋的刚性，分子收缩成致密的线团结构，因而就出现粘度下降和沉降系数增加等现象。故粘度和沉降系数的变化，可以作为测定核酸变性的指标。

变性后的 DNA 在 260 nm 的紫外吸收有明显升高称增色(高色)效应，这是测定核酸变性的一种最简便方法。嘌呤、嘧啶、核苷、核苷酸在紫外部分有强烈的吸收。但双螺旋的 DNA、RNA 和组成它的核苷酸混合物相比，则紫外吸收要低得多。这是由于在天然状态的核酸中，碱基互相堆积而包在双螺旋内部，使紫外吸收下降。变性后，碱基堆积破坏，碱基暴露，于是紫外吸收就明显升高。如大肠杆菌 DNA 经热变性后，在 260 nm 吸收的增色可达 40% 以上。

热变性是核酸的重要性质。当核酸的稀溶液加热达到某一狭窄温度范围时，发生分子

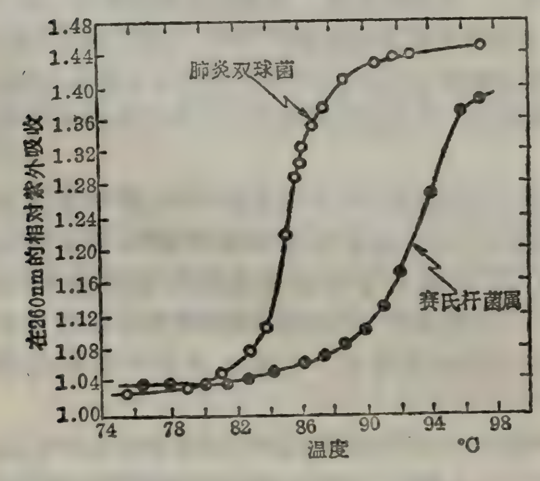


图 5-12 两种不同来源的 DNA，在 260 nm 的紫外吸收值与温度关系

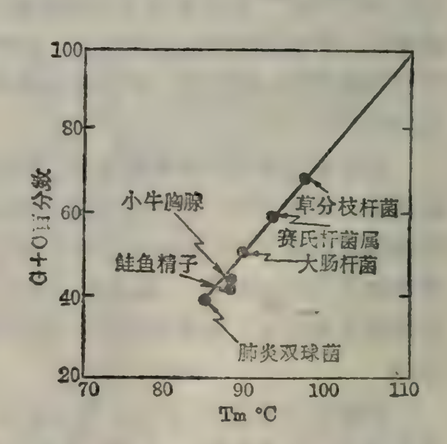


图 5-13 各种不同来源 DNA 的 $(G+C)$ 含量与 T_m 之间关系

融解和螺旋向线团转变的现象，这时的温度称为融解温度或解链温度(用 T_m 表示)。在 T_m 时表现出 260 nm 的光吸收值急剧上升的增色效应、比旋光值显著降低和粘度下降等现象。通常 DNA 的 T_m 为增色效应达 40～50% 时的温度，RNA 的 T_m 为增色效应达 30～40% 左右时的温度。图 5-12 为两种不同来源的 DNA，在 260 nm 的吸收值与温度变化的关系。

T_m 大小与 DNA 的碱基组成有关。由于 G-C 之间的氢键联系要比 A-T 之间的氢键联系强得多，故 G+C 含量高的 DNA 其 T_m 值愈高。当用不同来源 DNA 的 T_m 值对其(G+C)含量作图，能得到一条直线(图 5-13)，因此测定 T_m 值可知其 G+C 碱基的含量。

当温度高于 T_m 约 5°C 时，DNA 的两条链由于布朗运动而完全分开。如果将此热溶液迅速冷却，则二条单链继续保持分开；若将此热溶液缓慢冷却(称退火处理)，则二条单链可发生特异的重组合而恢复双螺旋(如图 5-14)。电镜等实验证明了这一事实。例如具转化活性的肺炎球菌 DNA 加热变性，并迅速冷却时，其转化活性丧失，得无定形线团形式的单链；若将其缓慢冷却时，则两条链重组合而产生一双螺旋的形式，生物活性在很大程度上得到恢复。这种由于变性条件去除后，变性的二条互补链可以重新结合起来，恢复到原来双螺旋的这一个过程称为复性。复性速度受很多因素影响，顺序简单的DNA分子比复杂的DNA分子复性要快，DNA 浓度高，复性也快，此外 DNA 片段大小、溶液的离子浓度等对复性速度也都有影响。

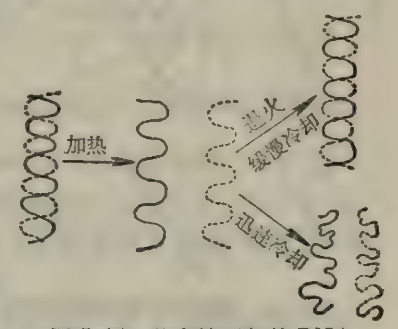


图 5-14　热变性引起的 DNA 二条链分离与复原

DNA 双螺旋的两条链，经变性分离后，在一定条件下可以重组合而复原，这是以相互补的碱基排列顺序为基础的。因此可以进行分子杂交。即不同来源的多核苷酸链，变性分离经退火处理后，若有互补的碱基排列顺序，就能形成杂合的双螺旋体，甚至可以在 DNA 和 RNA 之间形成杂合双螺旋体。当两种不同来源的 DNA 分子杂交时，形成双螺旋的倾向愈强，说明它们分子之间碱基顺序的互补性愈强。所以分子杂交是一种检测不同来源的 DNA 多核苷酸链上碱基排列顺序相关性等的重要技术。此外，分子杂交法还广泛应用于分离纯化 DNA 基因，研究基因转录和调控等方面。

三、核苷酸的解离性质

由于核苷酸是由磷酸、碱基和核糖组成，故为两性电解质，在一定 pH 条件下可解离而

表 5-5　几种单核苷酸解离基团的 pK 值

名　称	基　团			
	(NH_3^+)	烯醇基(OH)	第一磷酸基	第二磷酸基
	pK 值			
AMP	3.70	—	0.89	6.01
GMP	2.30	9.70	0.70	5.92
CMP	4.24	13.20	0.80	5.97
UMP		9.43	1.02	5.88

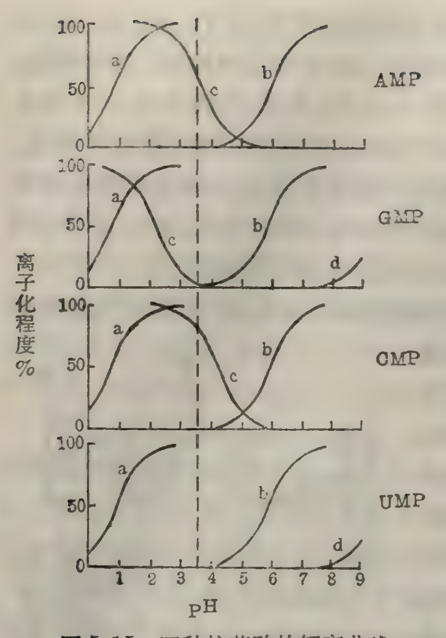


图 5-15 四种核苷酸的解离曲线

a. 第一磷酸基 b. 第二磷酸基
c. 氨基 d. 烯醇式 OH 基

带电荷，这是电泳和离子交换法分离各种核苷酸的重要依据。各种核苷酸上可解离的基团有氨基、烯醇基和第一、第二磷酸基。表 5-5 为几种常见核苷酸解离基团的 pK 值，图 5-15 为四种核苷酸中可解离基团的解离曲线。

由于烯醇基的 pK 值常在 9.5 以上，一般不适用于核苷酸分离，但氨基和第一、第二磷酸基团是很重要的。第一磷酸基解离的 pK 值为 0.7～1.0 之间，第二磷酸基的 pK 值在 6.0 左右。由于各核苷酸的这二个基团相互的 pK 值比较接近，因此磷酸基的解离主要可以使核苷酸带负电荷但不能用来作为分离的依据。而各核苷酸上的氨基解离却不同，在 pH 2.5～5.0 范围内，各核苷酸所带净电荷差异较大，在电泳和离子交换法分离核苷酸时起着决定性作用。例如在 pH 3.5 时，各核苷酸上氨基的正电荷离子化程度分别为 CMP 0.84、AMP 0.54、GMP 0.05 和 UMP 为零。而在这 pH 时，各核苷酸的第一磷酸基完全解离，各带一个负电荷，结果 UMP、GMP、AMP、CMP 所带净负电荷分别依次为 1、0.95、0.46 和 0.16（见表 5-6）。因此在 pH 3.5 条件下进行电泳可将这四种核苷酸分开。

表 5-6 四种核苷酸在 pH 3.5 时的离子化程度

核 苷 酸	氨基的 pK 值	离子化程度 %	净 负 电 荷
AMP	3.70	0.54	0.46
GMP	2.30	0.05	0.95
CMP	4.24	0.84	0.16
UMP	—		1.00

当用阴离子交换树脂柱分离四种核苷酸时，先在一定 pH 值条件下（pH 7.0 时），使磷酸基和氨基都解离而带负电荷并与阴离子树脂交换。洗脱时，随着 pH 值的降低，使磷酸基和氨基的解离度降低，分子上所带净电荷发生变化且各不相同，就能把它们分离开来。

四、核酸、核苷酸的紫外吸收性质及其在分析测定上的应用

由于核酸、核苷酸类物质的组成——嘌呤、嘧啶碱中都具有共轭双键，因此对紫外光有强烈的吸收，核酸溶液在 260 毫微米附近有一个最大吸收峰，在 230 毫微米有一个低谷。图 5-16 为 RNA 钠盐水溶液的吸收曲线，最大吸收峰在 260 毫微米，DNA 的吸收曲线与 RNA 无显著区别。

在一定 pH 条件下，各种嘌呤、嘧啶衍生物都有它们特定的紫外吸收曲线，图 5-17 为

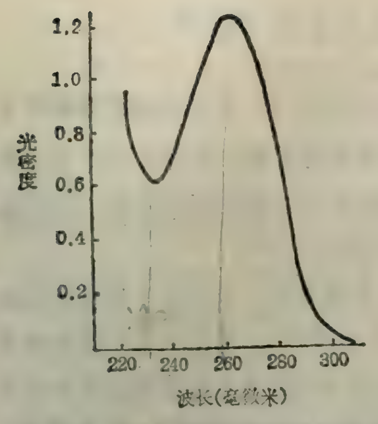



图 5-16 RNA 钠盐的紫外吸收曲线

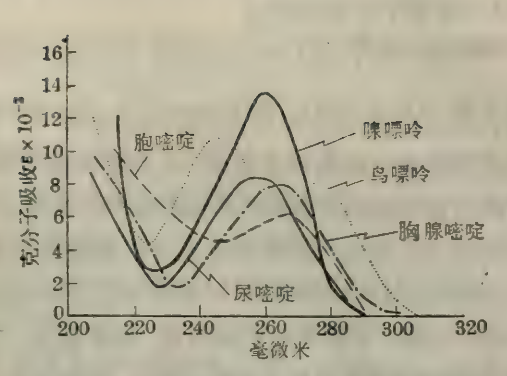


图 5-17 嘌呤、嘧啶碱在 pH 7 时的吸收曲线

pH 7 时的吸收曲线，*Ade*、*Cyt*、*Gua*、*Thy* 和 *Ura* 在 pH 7 时的最大吸收峰分别为 260、267、275、265 和 260 毫微米。由于它们的吸收值随各种碱基的解离状态不同而异，因此在测定核酸类物质的紫外吸收值和定量计算时，应注意在一定 pH 条件下进行。核酸、核苷酸类物质的这一紫外吸收性质很重要，可用于定性鉴定和定量测定。

各种碱基或核苷酸都有特定的紫外吸收的光密度比值(即 OD 比值)，当定性测定某一未知碱基或核苷酸样品时，可在 250、260、280、290 毫微米波长，先测得光密度值(即消光值，用 E 表示)，再计算出相应的比值(250 毫微米/260 毫微米、280 毫微米/260 毫微米、290 毫微米/260 毫微米)，与已知核苷酸的标准比值比较(见表 5-7)，就可判断是属于哪一种碱基或核苷酸。

表 5-7 几种单核苷酸的一些理化性质(pH2)

性质	种类				
	5′-AMP	5′-GMP	5′-CMP	5′-UMP	ATP
最大吸收波长 (nm) λ_{max}	259 (pH 7～12)	252 (pH 7)	271 (pH 6～12)	262 (pH 2～7)	259 (pH 7～11)
最小吸收波长 (nm) λ_{min}	227 (pH 7～12)	225	250 (pH 6～12)	230	230 (pH 2)
吸收光谱标准 O.D. 比值 250 nm/260 nm	0.84 (pH 2)	1.16 (pH 7)	0.45 (pH 1～2.5)	0.73 (pH 2～7)	0.85 (pH 2)
280 nm/260 nm	0.22 (pH 2)	0.68 (pH 7)	2.10 (pH 1～2.5)	0.39 (pH 2～7)	0.22 (pH 2)
290 nm/260 nm	0.038 (pH 2)	0.40 pH 2	1.55 (pH 1～2.5)	0.03 (pH 2～7)	0.027 (pH 2)
克分子消光系数 E_{260}(pH 7)	15.0×10^3	11.4×10^3	7.4×10^3	10.0×10^3	15.4×10^3
E_{260}(pH 2)	14.2×10^3	11.8×10^3	6.2×10^3	10.0×10^3	14.3×10^3
分子量	347.22	363.24	323.31	324.18	506.81

用紫外法进行核酸和核苷酸类物质的定量分析测定，有下面二种方法：

1. 克分子消光系数法

即在某一波长（如260毫微米）下测定核苷酸样品的消光值 E，从已知核苷酸的克分子消光系数 ε（见表5-7），代入 $\varepsilon=\frac{E}{C\times l}$ 式，即可算出核苷酸的含量。式中 ε 为1克分子浓度核苷酸在某一波长的消光值，E 为被测核苷酸样品溶液在同一波长的消光值，C 为被测核苷酸溶液的克分子浓度，l 为比色杯的厚度，一般为1厘米。

但克分子消光系数法用于大分子核酸的定量测定是有困难的，这是由于核酸样品纯度不一，分子量很难精确测定，不能配制克分子浓度溶液，无法测定 ε，加上大分子的核酸易发生变性和降解，核酸变性后或经碱、酶降解后，在260毫微米的紫外吸收值都比原来的天然大分子核酸的吸收值要大30～40%。因此用紫外吸收法测定大分子核酸时，通常都用比消光系数法。

2. 比消光系数法

比消光系数 ε 是指一定浓度的核酸或核苷酸溶液的消光值。如天然状态的DNA，它的比消光系数为0.020（指浓度为1微克/毫升的天然核酸水溶液在260毫微米处的消光值），这样就可计算出被测样品中核酸的含量。变性DNA、RNA的比消光系数一般采用0.022（1微克/毫升），混合5′-核苷酸为32（指浓度为1毫克/毫升的混合核苷酸水溶液在260毫微米的吸收值）。

至于克原子磷消光系数 $\varepsilon(P)$ 是指含磷为1克原子浓度的核酸水溶液在260毫微米处的消光值。在pH7时，中性溶液中天然未变性的DNA $\varepsilon(P)$ 为6,000～8,000，RNA的 $\varepsilon(P)$ 为7,000～10,000，当核酸变性或降解时，$\varepsilon(P)$ 值就大大升高，如变性后DNA达到8,800，RNA达到11,000，因此 $\varepsilon(P)$ 值可作为判断核酸天然状态程度的依据之一。

利用核酸核苷酸类物质紫外吸收这一性质，在260毫微米单色光（或250～290毫微米的紫外光）下能清楚地辨别经纸层析或电泳后纸上的碱基、核苷、核苷酸的暗黑色吸收斑点，以此可进行定性和定量测定。

电泳时，将RNA水解，得到含四种核苷酸的样品，定量地点在滤纸一边，通常在pH3.5的柠檬酸缓冲液中，电压300V条件下进行电泳约4～5小时。由于各核苷酸的氨基解离常数不同，在pH3.5时，虽然这四个核苷酸都向正极移动，但所带的净负电荷数有较明显差别，如UMP带负电荷最多，故向正极移动的速度最快，GMP、AMP、CMP向正极移动的速度由于电荷大小不同而依次递减。因此在电场中移动的速度依次为UMP>GMP>AMP>CMP，当停止通电后，就分别停留在纸的不同部位，然后将该纸条放在紫外层析灯下观察，有核苷酸的地位便可看到显现出暗紫色的斑点，与标准样品的图谱对照便可确定属于哪种核苷酸，图5-18为酵母RNA经碱水解后所得的四种核苷酸的电泳分离图谱。将斑点剪下，用稀盐酸洗脱下来，用紫外法测定

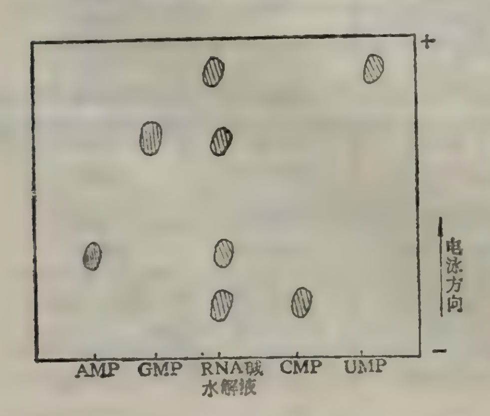


图5-18 酵母RNA碱水解的四种核苷酸电泳图谱

260 毫微米的光密度值，从已知核苷酸的克分子消光系数，可以算出核苷酸的含量。

紫外吸收法定量是根据嘌呤、嘧啶的性质来测定的，一般干扰因素较少，灵敏度高，方法简便、迅速。

紫外光可使生物发生变异，而且最有效的波长在 260 毫微米左右，这正是由于核酸对紫外线有强烈的吸收特性。紫外线之所以能引起变异，就是由于它影响了核酸结构。在筛选高产优质的菌种时常用紫外线照射法。微生物细胞内的核酸吸收紫外线后，引起核酸分子结构上细微改变，从而使微生物的某些性状起变化，可从中选出对生产有用的菌种。在抗菌素工业的育种工作中，曾应用此法选出了好的菌种，使产量大大提高。灰黄霉素的产生菌用紫外线处理后得到高产变种，产量提高 70% 以上。生产味精的 2305 菌种，经紫外线处理后得到腺嘌呤缺陷型，能产生肌苷酸，此缺陷型再经紫外线处理得到腺嘌呤和甲硫氨酸的双重缺陷型，使肌苷酸产量又提高一步。

在育种工作中，物理因素除用紫外线法外，也可用 X-射线、^{60}Co、快中子等的诱变作用。化学因素可用亚硝酸、羟胺($NH_2OH \cdot HCl$)、硫酸二乙酯[$(C_2H_5)_2SO_4$]、乙烯亚胺(
$CH_2—CH_2$ 经 N(H) 成环)、氯化锂(LiCl)、环氧乙烷($CH_2—CH_2$ 经 O 成环)、氮芥($(ClCH_2CH_2)_2NH \cdot HCl$)等，这些都是常用的化学诱变剂，可改变核酸的结构，引起菌种性状改变。

五、核酸的颜色反应及其在分析测定上的应用

DNA 和 RNA 中分别含有脱氧核糖和核糖，当 DNA、RNA 被酸水解后，嘌呤易脱下形成无嘌呤的醛基化合物，或水解得到核糖和脱氧核糖。这些物质与某些酚类、苯胺类化合物能结合成有色物质，可用来定性或根据颜色深浅作定量测定。

1. 孚尔根氏染色法

孚尔根氏染色法广泛应用于细胞核和染色体的染色，是一种对 DNA 有专一性的染色法，常用于细胞或组织切片的 DNA 定位方面。

孚尔根氏染色的基本原理是 DNA 的部分水解产物能使已被亚硫酸钠褪色的无色品红碱(Schiff 试剂)重新恢复颜色，使含有 DNA 的核质染上鲜紫红色。

染色过程：首先将已逐步脱蜡到水中的组织切片放在 50～60°C 的 1 *N* HCl 中，经过 10 分钟左右的不完全水解，然后浸入品红碱-亚硫酸钠试剂(无色)15～90 分钟。由于细胞核中的 DNA 被温热的盐酸部分水解，一方面破坏部分酯键，使 DNA 成为分子量比原来小些的 DNA 片段，但分子量仍很大，因此不发生扩散而仍留在原来 DNA 的地方；另一方面，在酸性条件下，又破坏了嘌呤和糖相连的糖苷键，使嘌呤脱下，2-脱氧核糖上的醛基暴露，DNA 成为含醛基的无嘌呤酸，并与 Schiff 试剂发生反应，使无色品红碱分解成鲜紫红的品红碱，有 DNA 的部位就染成鲜紫红色。

$$\underset{\text{无色(浅黄)}}{\text{品红碱}-\text{亚硫酸试剂}} \rightleftharpoons \underset{\text{紫红色}}{\text{品红碱}} + Na_2SO_3$$

组织切片经此法染色后，可知 DNA 在细胞内的分布位置，用显微分光光度法测其颜色强度，就可定量。

2. 核酸中糖的测定

RNA 的核糖和 DNA 的脱氧核糖，分别有特殊的颜色反应，经显色后，所呈现的颜色深浅，在一定范围内，与样品中所含的核糖或脱氧核糖量的多少成正比，因此可用定糖法来测核酸的量。今介绍常用的二种方法。

(1) 核糖的测定　目前常用来测定核糖的方法是苔黑酚（即 3, 5-二羟甲苯）法。当含有核糖的 RNA 与浓盐酸以及 3, 5-二羟甲苯一起在沸水浴中加热 20～40 分钟左右，即有绿色物产生。这是由于 RNA 脱嘌呤后的核糖与酸作用生成糠醛，它再和 3, 5-二羟甲苯作用而显蓝绿色。

$$\text{RNA} + \text{浓盐酸} + \text{苔黑酚（3,5-二羟甲苯，}CH_3, OH, OH\text{）} \xrightarrow[FeCl_3]{100°C} \text{蓝绿色物}$$

苔黑酚

根据 RNA 样品产生的绿色深浅，在 670 毫微米比色得到的光密度值，从标准曲线中查得的相当于此核糖量的 RNA 含量，即可计算出样品中 RNA 含量。

此法线性关系好，但灵敏度较低，可鉴别到每毫升 5 微克的 RNA，当样品中有少量 DNA 时不受干扰，但蛋白质和粘多糖等物对测定有干扰作用，故在比色测定之前，应尽可能去掉这些杂质。

(2) 脱氧核糖的测定　通常用来测定脱氧核糖的方法是二苯胺法。当含有脱氧核糖的 DNA 在酸性条件下和二苯胺一起在沸水浴中加热 5 分钟，能产生蓝色。这是由于 DNA 中嘌呤核苷酸上的脱氧核糖遇酸生成 ω-羟基-γ-酮基戊醛，它再和二苯胺作用而显现蓝色。

$$\text{DNA} + \begin{matrix}\text{冰醋酸}\\\text{少量浓硫酸}\end{matrix} + C_6H_5\text{—NH—}C_6H_5 \xrightarrow{100°C} \text{蓝色物}$$

二苯胺

根据样品产生蓝色的深浅，在 595 毫微米比色测得光密度，再从标准曲线上查得相当于 DNA 的含量。

此法灵敏度更低，可鉴别的最低量为每毫升 50 微克 DNA，测定时易受多种糖类及其衍生物、蛋白质等的干扰。

由于上述二方法测得的糖量只是与嘌呤连接的糖，故不能用测得的糖量直接换算出核酸的量。又因为不同来源的 RNA 所含嘌呤、嘧啶的比例不同，因此作标准曲线时，应当选用与被测样品相同来源的或嘌呤、嘧啶比例相近的，经纯化的核酸作标准曲线，通过标准曲线，查出被测样品的核酸含量。

定糖法虽准确性差，灵敏度低，干扰物多，但方法快速简便，不要特殊的仪器就能鉴别 DNA 与 RNA，所以也是定性鉴别和定量测定核酸、核苷酸的常用方法。

六、核酸含磷量的测定

DNA 和 RNA 都含有一定量的磷酸，根据元素分析知道，纯的 RNA 及其核苷酸一般含磷量为 9%；DNA 及其核苷酸含磷量为 9.2%，即每 100 克核酸中含有 9～9.2 克磷，也就

是核酸量为磷量的11倍左右，故核酸定量测定时，每测得1克磷就相当于有11克的核酸。此法准确性强，灵敏度高，最低可测到每毫升5微克的核酸，可作为紫外法和定糖法的基准方法。

由于核酸和核苷酸中的磷是有机磷，常用的测定磷的方法是测定无机磷的方法。因此测定时先要用浓硫酸将核酸、核苷酸消化，使有机磷氧化成无机磷，然后与钼酸铵定磷试剂作用，使产生蓝色的钼蓝，在一定范围内，其颜色深浅与磷酸含量成正比关系，根据样品产生的蓝色深浅，在660毫微米比色测得光密度，从磷的标准曲线可得到样品中磷的含量，从而求出核酸的含量。

核酸样品中有时含有无机磷杂质，因此用定磷法来测定核酸含量时，一般样品材料也要进行预处理，或者样品分别测定总磷量（样品经消化后测得的总磷量）和无机磷（样品不经消化直接测得的磷量）的含量，将总磷量减去无机磷量即为核酸的含磷量。

由于DNA和RNA中都含有磷，当样品中RNA和DNA含量都较高时，用定磷法来测定DNA或RNA时，必须先把二者分开。

七、核酸分析测定时样品的预处理

用上述定磷、定糖或紫外吸收的方法去测定某一生物材料中核酸或其水解物含量时，一般要先经预处理。因为在一些生物材料（如动物组织、微生物）中除含核酸外，还有许多如磷蛋白、糖类、磷酯、核苷酸类辅酶和游离核苷酸等杂质，如果不去掉，所测得结果就不正确。因此要正确地定量测定某一材料中的核酸含量时，必须做预处理，去掉杂质，避免干扰，如酒糟酵母培养液干重的98%以上是杂质，经处理后，就能将其中含量仅1%的核酸准确测出来。

一般要先经过二步预处理：(1)将生物组织细胞在低温下磨碎成匀浆，然后用冰冷的稀的三氯醋酸或1%的高氯酸在低温下抽提几次，离心去上清液，这样可去掉酸溶性小分子的物质，如含磷化合物、糖、氨基酸、核苷酸、辅酶等。留下沉淀为蛋白质、核酸、脂类、多糖等。(2)再用有机溶剂如乙醇、乙醚、氯仿等抽提去掉脂溶性的磷脂等物质，残余物为不溶于酸

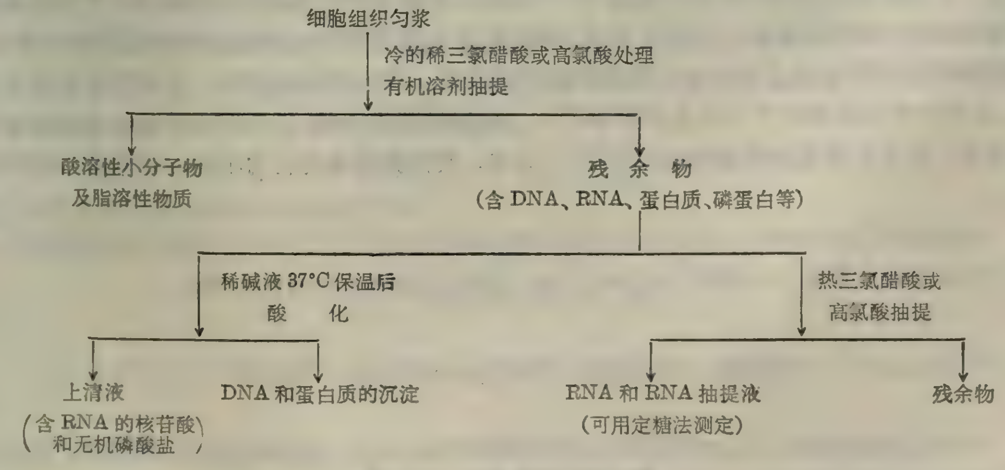


图5-19 预处理的主要步骤

的非脂化合物，主要成分是DNA、RNA、蛋白质、磷蛋白和少量磷化合物等，然后可用下面二种方法进一步去测定DNA和RNA(见图5-19)。

1. 酸处理法

又称Schneider法。经预处理后的核酸样品用5%三氯醋酸或6%高氯酸在90℃下抽提15分钟，DNA和RNA都成为酸溶性物而抽提出来。这抽提液就能用定糖法去分别测定DNA和RNA的含量。此法优点是简便快速，但没有把DNA和RNA分开，干扰因素很多，不十分准确。

2. 碱处理法

又称Schmidt和Thannhauser法。经预处理后的核酸样品，用温热(37℃)的稀碱液(1～0.3N的KOH或NaOH)保温18小时，使RNA降解为酸溶性的单核苷酸，而DNA则不发生降解，然后用酸中和，再用三氯醋酸或高氯酸进行酸化，这样来自RNA的核苷酸则存在于上清液中，而DNA却随着大量蛋白质一起沉淀下来，离心分离后就可分别用定磷法来测定RNA及DNA含量。如上清液中存在有无机磷和其他磷化合物，则可将无机磷酸盐加以沉淀后测定，或者测定酸溶性上清液的总磷量和无机磷量，以总磷量减去无机磷量即为RNA的磷量。此法优点是能把RNA和DNA分开，可分别用定磷、定糖以及紫外法来测定它们的含量。

第六节　核酸的分离提取和核苷酸类物质的制取

核酸的分离提取主要是去除蛋白质等杂质，而使核酸不发生变性或降解，最终得到纯的核酸制剂。

在细胞内，DNA、RNA都是以核蛋白形式存在，且二者常混在一起，细胞内还有许多蛋白质、糖、脂类等杂质，要提取纯的核酸困难较大。加上核酸本身很不稳定，易受热、强酸、强碱、紫外线、电离辐射等因素而变性或降解。而且在生物细胞内常常都含有能分解RNA或DNA的核酸酶，如不去掉或不抑制这些酶的活力，则在分离提取过程中，DNA或RNA就会被酶降解，使其分子量降低。所以如要得到可用于理论研究的具有活性的大分子核酸材料，在分离提取过程中应采用低温(0℃左右)，避免用强酸强碱和变性因素，并使用核酸酶的抑制剂，如柠檬酸钠、EDTA、8-羟基喹啉、氟化物和高岭土等都能抑制核酸酶的活力。如果提取出来的核酸是用于生产某种核酸降解物的，那么提取过程中，条件不要求那么严格，发生变性或降解对下一步生产影响不大。如用细菌生产时，甚至不必从菌体中把核酸分离出来，只要直接碱解或酸解就可以了。总之，要根据制备的目的不同，而采用不同的方法。

在制取大量的核酸时，必须考虑选材问题，尽可能选取含DNA或RNA丰富的材料，一般DNA制取大都用小牛胸腺或鱼精为材料，RNA以酵母、白地霉为材料。

一、核酸分离提取的主要步骤

分离提取核酸的过程，一般要经过细胞组织破坏、核蛋白解离并使蛋白质变性、去除杂蛋白、抽提核酸以及进一步去除其他杂质等步骤才能得到纯度高的核酸。

使核蛋白解离和蛋白质变性，常用的方法有浓盐法(10% NaCl)，可使核蛋白解离为核酸和蛋白质。或用硫酸十二酯钠盐(SDS)法，SDS是一种去污剂，蛋白质的强烈变性剂，能使蛋白质充分变性而不与核酸结合，达到解离核蛋白和蛋白质变性的目的。一般用0.5%左右的SDS，搅拌3小时就能使蛋白质充分变性。此外氯仿和酚都是蛋白质变性剂，可用来抽提核酸，使蛋白质和核酸分离。

为了进一步分离纯化，去除蛋白质后的核酸抽提液，必须使核酸沉淀。常用的核酸沉淀方法有酒精沉淀法、多价金属离子沉淀法和酸沉淀法。一般在核酸溶液中加入相当于2倍体积的酒精，就能使核酸沉淀析出。常用的多价金属离子化合物有醋酸氧铀[$UO_2(AC)_2$]、氯化镧($LaCl_3$)、氯化锰($MnCl_2$)等，它们都是酸性高分子物质的沉淀剂。酸沉淀法易使核酸破坏，故必须在低温下操作。

所得核酸制品，如要进一步纯化得到均一的DNA、mRNA、rRNA、tRNA等制剂，可根据各种核酸理化性质(如分子量、解离性、溶解度和组成等)的不同来分离。常用的方法有超离心沉降法、密度梯度离心法、凝胶层析法、凝胶电泳法、离子交换层析法以及应用各种化学试剂的分级沉淀法。下面简单介绍一些制备DNA、RNA的具体方法。

二、DNA的制取

制取DNA大多选用小牛胸腺和新鲜鱼蛋白为原料，应用阴离子去污剂的方法，步骤如下：

(1) 新鲜小牛胸腺浸入冷的含0.14 *M* (即0.9%) NaCl和0.01 *M* 柠檬酸钠的混合液(称标准液)中，去杂质，并反复洗涤至无血色为止。然后在组织捣碎机中搅碎(8000转/分)使成匀浆，离心弃去上清液，沉淀再加适量标准液再捣碎、离心，直到沉淀物洗净发白为止。由于在0.14 *M* 的NaCl溶液中DNA-蛋白溶解度最低，而RNA-蛋白溶解度较大，因此沉淀物反复用标准液洗涤可以去掉RNA-蛋白等杂质，而DNA-蛋白仍留在沉淀物中。加入柠檬酸钠可以螯合Mg^{++}，从而抑制DNase的活性。

(2) 洗净的沉淀物溶于生理盐水中，在搅拌下加入去污剂——硫酸十二酯钠盐溶液(称SDS溶液)，溶液由稀变粘稠，DNA与蛋白解离开来，蛋白质变性，冷藏过夜。然后溶液在边搅拌下加入NaCl，使溶液的NaCl浓度达到1 *M*，溶液的粘稠度下降，这时DNA溶解而蛋白质等杂质沉淀，离心去除蛋白质沉淀，得乳白状清液，过滤后加入等体积95%冷乙醇，就有白色纤维状DNA析出，即为DNA粗制品。

(3) 粗制品如要精制，可用去污剂进一步去掉蛋白质等杂质，用95%乙醇使DNA沉淀，如此反复数次，即可得较纯的DNA。

三、RNA的制取

目前我国工业上制取RNA主要利用啤酒酵母、面包酵母、酒精酵母、白地霉和青霉菌等。

由于酵母和白地霉中的核酸大部分是RNA，而DNA的量很少，不须特地去分离，且菌体分离和RNA抽提都较容易，因此是制取RNA的好材料。目前从酵母和白地霉制取

RNA 的方法有稀碱法、浓盐法和自溶法，先使 RNA 从细胞中释放出来，再进行提取、沉淀和纯化。

(1) *稀碱法* 以酵母为材料，由于酵母外面有一层坚韧的胞壁，须先用 1% NaOH 在 25°C 左右处理使之变性，RNA 才能从细胞内释放出来。然后用 6 N 盐酸中和到 pH 7，使 RNA 溶于水中，再加热到 90～100°C，破坏分解核酸的酶，并使菌体残渣和蛋白凝固沉淀。迅速冷却到 10°C 以下，除去蛋白及菌体渣沉淀，RNA 在上清液中。利用核酸在等电点时溶解度最小的性质，调节上清液到 pH 2～2.5，并低温放置，使 RNA 从溶液中沉淀下来，离心收集即得 RNA。此法抽提时间短，成本低，得率约占干酵母重量的 4～5%。

(2) *浓盐法* 在含 10% 干酵母的水溶液中加入 NaCl，使盐浓度达到 8～12%，加热到 90°C，抽提 3～4 小时，由于高浓度的盐溶液，既能改变白地霉、酵母细胞壁的通透性，又能有效地解离核蛋白成核酸和蛋白质，使 RNA 从菌体内释放出来。离心去菌渣后的上清液再冷却到 6°C 以下，并调节到 pH 2～2.5，静止 3～4 小时使 RNA 充分沉淀。所得 RNA 沉淀再用乙醇洗涤去掉脂溶性杂质和色素，得白色 RNA 产品，得率一般在 3% 以上。此法所得为变性 RNA 及部分降解的 RNA，可进一步制取各种核苷和核苷酸。

上述两方法所用碱或盐的浓度，随菌的种类、综合利用的要求而不同。提取时，应避免在 30～70°C 停留较长时间，因在这温度范围时，磷酸单酯酶和磷酸二酯酶作用活跃，会使大分子的 RNA 降解成小分子的片段而无法沉淀，影响得率。提取时加热到 90°C 保持 3～4 小时，除了可以使核蛋白中蛋白质解离外，同时也能破坏这二类酶，有助于大分子 RNA 的提取。

四、核苷酸类物质的制取

核苷酸类物质制取的方法很多。目前主要有：

(1) *微生物发酵法* 如肌苷酸、肌苷以及辅酶 A 的生产都可用发酵法。

肌苷酸即 5′-次黄嘌呤核苷酸(IMP)，结构式如下：

肌苷酸的生产方法很多，目前主要是从微生物发酵法直接获得。在正常机体中，肌苷酸是生物体合成 AMP 和 GMP 的前体。由于核酸、核苷酸代谢不断进行，因此肌苷酸在细胞内含量很低，经常保持在一定水平。将谷氨酸棒状杆菌和产氨短杆菌人工诱变后，分别选育出产肌苷酸的 265 和 926 菌种，它们在生长方面表现为腺嘌呤营养缺陷，在核酸的合成途径中缺失了一个酶，使 IMP 不能进一步去合成 AMP，从而使 IMP 在发酵液中大量累积。IMP

是强力味精和重要药物。

此外，肌苷酸也可用酶促或化学法制得。即先从 RNA 水解液中得到 5′-AMP，然后再用脱氨酶处理或用亚硝酸作用，使 AMP 转变为 IMP。

(2) *酶法、酸法、碱法或自溶法* 用酶法、酸法、碱法或自溶法水解核酸生成核苷酸，然后再进行分离提纯，制取各种核苷酸。

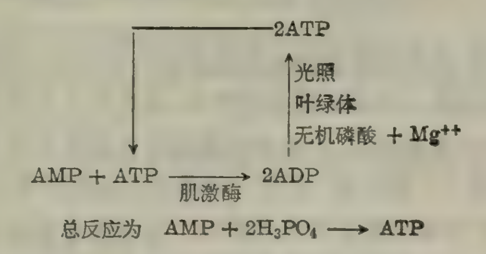
酶法常用桔青霉的 5′-磷酸二酯酶去水解 RNA 或 DNA。所得水解液经离子交换树脂分离后可得到各种 5′-核苷酸或 5′-脱氧核苷酸。

自溶法是在一定条件下，利用菌体细胞内的磷酸二酯酶，专一地作用于菌体自身的核酸，使之水解为单核苷酸，再从细胞内渗透出来。可以进行自溶的有酵母和细菌。酵母在酸性条件下自溶生成 3′-核苷酸，在碱性条件下生成 5′-核苷酸。谷氨酸产生菌含 RNA 量较高，一般达 7～10%。该菌的 2% 湿菌体在 pH10 和 60～65°C 条件下处理 20 分钟，即发生菌体自溶。

(3) *利用生物体的酶系和模拟生物体的条件来制取* 如酶促磷酸化法生产 ATP 时，就是以葡萄糖、无机磷和 AMP 为原料，与啤酒酵母一起作用，利用酵母细胞中的酶系，把葡萄糖氧化产生的能量，固定在 ADP 上，使 ADP 磷酸化成为 ATP。ATP 也可用光合磷酸化制取，就是在离体条件下利用植物叶中的叶绿体(通常用菠菜叶)，把光能转变成高能磷酸键，固定在 ADP 上，使 ADP 形成 ATP，反应过程如下：

$$2ADP + 2H_3PO_4 \xrightarrow[Mg^{++}、PMS]{光、叶绿体} 2ATP$$

反应受某些电子传递的辅助因子 PMS (二氮蒽甲硫酸) 的促进。所用 ADP 是由 AMP 在兔肌激酶作用下，由 ATP 磷酸化生成的。



总反应为 $AMP + 2H_3PO_4 \longrightarrow ATP$

(4) *从动物、植物组织和微生物中提取得到核苷酸类物质* 如 ATP 可从兔肌中提取；辅酶 A 可从酵母或白地霉中提取。

第六章　酶

第一节　酶的一般概念

一、酶是生物催化剂

生物体内的新陈代谢过程包含着许多复杂而有规律的物质变化和能量变化。绿色植物利用太阳光能、水、二氧化碳和无机盐等简单物质，经过一系列变化合成复杂的糖、蛋白质、脂肪等物质。而动物又利用植物体中的物质，并经过错综复杂的分解和合成反应转化为自身一部分，得以生长、活动、繁殖等。这许多化学反应都是在酶催化下进行的。

日常生活中常常会碰到一些现象，吃饭时多嚼些时候，会感到甜味，这是因为我们口腔的唾液里有淀粉酶能把饭中的淀粉分解成为糊精和麦芽糖。医生常给消化不良的病人吃多酶片，这种多酶片的主要成分是胃蛋白酶、胰蛋白酶、淀粉酶，它们能帮助人们将食进的蛋白质、淀粉分解成简单的物质，而易被肠壁吸收。

那么，酶是什么呢？酶是由生物细胞所产生的、以蛋白质为主要成分的生物催化剂。生物体内一切化学反应，几乎都是在酶催化下进行的，在酶催化下一切反应都是在比较温和的条件下进行的。而同样一个反应用化学的方法则需要高温或高压、强酸或强碱条件下才能进行。

生物体内的代谢活动，是由无数错综复杂的反应所组成的，这些反应都是有一定顺序性和连续性的，反应之间彼此配合有条不紊地进行着，这是由于有许许多多的酶受到多方面因素的调节和控制，才能组合成有规律、有组织的酶系来完成复杂的代谢活动。酵母菌利用糖发酵成酒精的过程要经过十二步反应，由十二种酶组成的酶系催化下进行的。因此酶就是生物体内进行新陈代谢不可缺少的受多种因素调节控制的具有催化能力的生物催化剂。只要有生命活动的地方，就有酶在起作用，生命不能离开酶而存在。

二、酶催化作用的特点

1．催化剂的特点以及与活化能关系

化学反应的自由能方程式可表述为：

$$\Delta G=\Delta H-T\Delta S$$

当反应的 $\Delta G>0$ 时，反应不能自发进行，当反应的 $\Delta G<0$ 时，反应能自发地进行。但是自由能降低并不说明这个反应实际上能够自发地进行，因为这只是从热力学角度判断反应进行的可能性，反应实际上能否发生，还要从动力学角度来判断，如果反应速度极慢，实际上反应也就不能进行，有时由于不能克服反应能量位垒(barrier)的阻碍而使反应实际上不能进行。为了克服位垒的阻碍，往往使用催化剂，在生物化学反应中，酶就是一种生物催化剂。

什么叫催化剂呢？一杯蔗糖水溶液，如果没有酸或任何催化剂存在，在无菌条件下，即使经过很长时间也不会分解为果糖和葡萄糖。如在此溶液中加入少量盐酸，加热后蔗糖就很快被分解成果糖和葡萄糖。在这反应中，盐酸只是使蔗糖分解的速度加快，反应完毕后，盐酸还是盐酸，它只是起了促进的作用，在这反应中盐酸就是一种催化剂。同样，加入蔗糖酶也能促进蔗糖的分解，使它的反应速度加快，蔗糖酶也是一种催化剂。因此酶与一般催化剂一样，都是能显著地改变化学反应速度，使之加快达到平衡，但不能改变反应的平衡常数。反应完成时，催化剂本身的化学性质并不发生改变。

在一个化学反应体系中，因为各个分子所含的能量高低不同，每一瞬间并非全部反应物分子都能进行反应。只有那些具有较高能量的"活化分子"才能在碰撞中发生化学反应。"活化分子"越多，则反应越迅速。分子由常态转变为活化状态所需的能量称为活化能。通常用加热或光的照射都可使一部分分子获得所需的活化能，增加活化分子数，从而加速化学反应的进行。反应所需的活化能越大，相对地活化分子也就少，反应就越慢。相反，反应所需活化能越低，活化分子就多，反应就加快。在有催化剂参与反应时，一般可以减少反应所需的活化能。这样使得分子比较容易活化，活化分子数亦易增多，因此加快了化学反应的速度。从图 6-1 可看出没有催化剂存在时，反应所需的活化能，要比有催化剂存在时大得多。

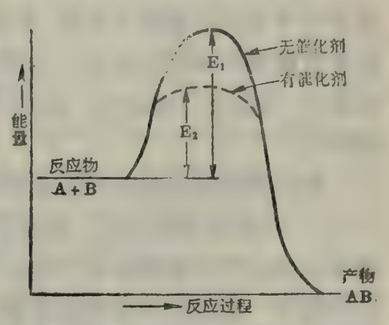


图 6-1　催化反应中的能量变化

E_1，E_2 表示活化能

例如在没有催化剂存在的情况下，每克分子过氧化氢分解为水和氧所需的活化能为 18,000 卡，用胶态钯(铂)作催化剂时，则每克分子过氧化氢分解需要的活化能降低为 11,700 卡；当用过氧化氢酶催化时，则活化能只需要 1,700 卡。使蔗糖水解所需的活化能为 32 万卡，用 H^+ 作催化剂时，活化能降低为 25,000 卡，用蔗糖酶时，则活化能只需要 9,400 卡。

因此，酶和一般催化剂的作用就是能降低化学反应所需的活化能，从而使活化分子数增加，反应速度加快。

2．酶与一般非生物催化剂的区别

酶和一般非生物催化剂相比较，有以下几个特点：

(1) *酶主要成分是蛋白质*　酶具有表现活性和专一性所必需的空间结构，以提供活性中心。酶由生物体产生，并对周围条件很敏感，如不耐高温，遇强酸、强碱、重金属盐或紫外线等因素影响易失去活性。在酶催化下的一切反应都是在比较温和条件下进行的。

(2) *酶的催化效率非常高*　一般为无机催化剂的 10^6～10^{13} 倍。以 $2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$ 为例，一克分子过氧化氢酶(马肝)在一定条件下可催化 5×10^6 克分子过氧化氢分解为水和氧，同样条件下每克离子铁只能催化水解 6×10^{-4} 克分子，此酶的催化效率为铁离子的 10^{10} 倍。又如存在于血液中催化 H_2CO_3 分解为 CO_2 和 H_2O 的碳酸酐酶，它的催化效率是每一个酶分子每分钟可催化 1900 万(1.9×10^7)个 H_2CO_3 分子分解，正因为如此，才能维持血液中正常酸碱度和及时完成排出 CO_2 的任务。由此可见，酶的催化效力是很高的。在生物细胞内，虽各种酶的含量是很低的，但仍可催化大量的底物发生反应。唾液淀粉酶稀释 1 百万倍后，仍具有催化活力。

酶这样高的催化效率在生产实际上是十分有用的。以纺织工业上的褪浆为例，化学法需要用7～9克NaOH/升，70～80℃条件下作用12小时，褪浆率仅50～60%。当用细菌α-淀粉酶在60～70℃条件下作用0.5～1小时，褪浆率可达85%，如果温度为100℃，则只要作用5分钟，褪浆率即达100%。酶法在某些生产部门将起着革新的作用。

(3) 酶具有高度的专一性　就是指酶对所作用的底物有严格的选择性，某一种酶往往只能对某一类物质起作用，或只对某一种物质起催化作用，促进一定的反应生成一定的产物。一般无机催化剂对其作用物没有这样严格的选择性。如铂可以催化很多反应，氢离子可催化淀粉、脂肪、蛋白质和蔗糖等水解，而蔗糖酶只能催化蔗糖水解，蛋白酶只能催化蛋白质水解，淀粉酶只能催化淀粉水解，它们对其他物质则没有催化作用。

酶作用的专一性是酶最重要的特性，生物体内复杂的代谢过程包含着许多化学反应，必须有许多不同的酶参与作用，如果没有许多专一性的酶组成一系列酶的催化体系，生物体内物质有规律的新陈代谢就不可能，生命也就不存在。当代谢过程中某一环节的酶遭到破坏或缺失，那就会引起疾病。因此只有研究各种酶的专一性，才能更好地阐明酶在代谢过程中的作用。

根据酶对底物的选择程度不同有几种情况：

1) 立体异构专一性：有不少有机化合物，都具有立体异构的特性，而在酶催化下的底物或生成的产物都只能是立体异构体中的一种，这种专一性称为立体异构专一性。酶的立体异构专一性是相当普遍的现象，几乎所有的酶对于立体异构体都具有高度专一性，例如D-氨基酸氧化酶只能催化D-氨基酸的氧化脱氨作用，而对L-氨基酸则无作用。精氨酸酶只能催化L-精氨酸分解成鸟氨酸和尿素，而对D-精氨酸则无作用。蛋白水解酶仅作用于L-氨基酸残基组成的肽键或其衍生物，而不作用于D-氨基酸残基组成的肽键或其衍生物。

又如丁二酸脱氢酶能催化丁二酸（即琥珀酸）脱氢生成反丁烯二酸（即延胡索酸），而不能催化生成顺丁烯二酸：

$$\underset{\text{丁二酸}}{\begin{matrix} CH_2COOH \\ | \\ CH_2COOH \end{matrix}} \underset{+2H}{\overset{-2H}{\rightleftharpoons}} \underset{\text{反丁烯二酸}}{\begin{matrix} HOOCCH \\ \parallel \\ HCCOOH \end{matrix}}$$

麦芽糖酶只能催化水解α-型的葡萄糖苷键，而不能水解β-型的葡萄糖苷键。

2) 酶作用专一性的程度：各种酶对底物选择程度不同，有的酶对底物要求不太严格，可作用于某一类或更多的底物；有些酶要求严格，只能作用于某一种底物。

例如D-氨基酸氧化酶，虽然对L-氨基酸全无作用，但能催化各种D-氨基酸的氧化脱氨作用。

脂酶能催化各种脂肪水解成甘油（醇）和脂肪酸，只要有酯键都能水解，对底物的R_1、R_2结构要求不高：

$$R_1C\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow OR_2 \end{matrix} \xrightleftharpoons{+H_2O} R_1COOH + R_2OH$$

另外如胰蛋白酶、羧肽酶，对底物的要求较酯酶高一些，它们可以催化水解肽键，但并不是所有肽键都能催化水解，如胰蛋白酶要求它水解的肽键的羧基端是碱性氨基酸如赖氨酰-，精氨酰-，羧肽酶则要求水解的肽键的邻近有自由α-羧基，即水解C端的氨基酸：

```
  NH2
  |
  (CH2)4          R                R           R
  |               |                |           |
—HNCHCO—┆—NHCHCO—……—HNCHCO—┆—NHCHCOOH
          ↓                          ↓
       胰蛋白酶                     羧肽酶
```

从胰脏分泌的胰麦芽糖酶(又称 α-葡萄糖苷酶)能水解一切 α-葡萄糖苷键，即对底物要求必须有一个 α-葡萄糖的糖苷键，但对 R 基则要求不严格，可以是葡萄糖也可以是甲基等，如麦芽糖、α-甲基葡萄糖都能水解。

```
        CH2OH                        …HNCHCO—┆—NHCHCO…
                                             ↓
       |—O                             |          |
  OH                                 (CH2)3        H
       OH            |—O—┆—R            |
  OH                      ↓            NH
                                        |
        OH                              C
                                      HN  NH2
```

α-葡萄糖苷酶作用特点　　　　凝血酶作用特点

有很多酶具有高度的专一性，对底物要求严格，往往只能作用于某一种底物，如尿酶只能催化尿素水解生成氨和 CO_2，而对其他任何尿素的衍生物都不具催化水解作用。又如凝血酶是血液凝固过程中一系列酶中间的一种，专一性强，对于被水解的肽键二旁的羧基端和氨基端都有较严格要求，要求羧基端为精氨酸残基，氨基端为甘氨酸残基。

酶作用的专一性在实践中很重要，很多酶的应用，都是利用酶的专一性特性。例如生产上所用原料或产品成分常常很复杂，由于酶的专一性强，故可选用所需的酶，选择性地利用粗原料中某一成分来制成所需的产品或去除某产品中不要的成分，使产品按照我们的要求生产。如葡萄糖生产中，用酸法时，因酸水解没有选择性，因此要求用精制淀粉为原料，而且水解过程还会产生苦味的龙胆二糖，产品放久后会变褐色，影响质量。当用酶法时，由于淀粉酶具有高度专一性，故可直接用山芋粉甚至米糠等成分复杂的粗粮为原料，使成本大大降低，而且没有不良副产物，使产品质量得到提高。又如啤酒、果子酒放久后易产生蛋白质沉淀而使酒混浊，加入少量菠萝蛋白酶就可以分解蛋白质，防止混浊。对一些光学异构体，一般用化学方法很难区分开，而酶可以从消旋混合物中选择性地催化某一异构体发生反应，从而达到分离目的。

(4) **酶的催化活性是受到调节和控制的**　这是酶区别于一般催化剂的一个重要特性。因为在生物体内酶和酶之间，酶和其他蛋白质之间还存在着相互作用，影响酶的活性，其他酶反应的产物又可以反过来对另一个酶的活性有正的或负的影响。而且一个酶反应又往往和其他酶反应首尾相连，一环扣一环地进行。还因为酶在体内的反应是在局部地区进行的，有时酶的浓度会很高，因此酶在体内是受到多方面因素调节和控制的。

酶的调节控制有多种方式：有在不同水平上来调节和控制酶的生成和降解；有在激素水平上调节修饰某些酶的共价结构，从而控制其活性；有通过酶原的活化来调节酶的活性；有通过抑制剂对酶活力进行调控以及通过反馈作用来调节控制酶的活性；还有通过同工酶的方式对反应进行调控以及多酶复合体进行调控等等。可见生物体内酶的调节是错综复杂而又十分重要的，是生物体维持正常生命活动必不可少的。一旦失去了调控，就会表现病态甚至死亡。一个失去调控作用的酶，即使它还具有催化活性，但是在生物体内却往往失去了作用。

三、酶的化学本质及其组成

(1) 酶的化学本质是蛋白质，这个概念在今天已是无可非议的了。但在四、五十年前，还属于争论的问题。有人从酵母中提取蔗糖酶，稀释了很多倍，这酶分解蔗糖为葡萄糖和果糖的活力仍然很高，但测不出蛋白质的颜色反应。现在看来，因为此酶的活力很强，极少量就表现出活力，而当时检定蛋白质的方法很粗糙，不灵敏，故有酶的活力而测不出其蛋白质存在，阻碍了人们对酶的认识。以后随着被结晶提纯的酶逐渐增多，从它们的物理、化学分析结果都证明是蛋白质，这样才确立了酶的化学本质是蛋白质的概念。目前已被研究的酶有近二千种。

因此，酶就是一类具有催化功能的蛋白质，它与其他蛋白质一样，分子量大，一般从一万多到几十万，有一级结构和高级结构，并具有一般蛋白质的理化性质：① 酶被水解的最后产物为氨基酸，能被蛋白酶水解而丧失活力。② 酶是两性电解质，在等电点时易沉淀，在电场中能象蛋白质一样泳动。③ 酶是大分子化合物，具有不能通过半透性膜等胶体性质。④ 一切可以使蛋白质变性的因素，如紫外线、热、强酸、强碱、重金属盐、蛋白质沉淀剂等，都同样可以使酶变性失活。如酶对热不稳定易失活，一般蛋白质变性温度往往亦即酶失活的温度。此外，对所有高度纯化或结晶的酶进行化学分析，都证明酶是蛋白质或者是蛋白质与小分子的络合物。

(2) 从酶的化学组成来看，有简单蛋白和复合蛋白二类。属于简单蛋白的酶，除了蛋白质外，不含其他物质，如尿酶、蛋白酶、脂酶等。一般催化水解作用的水解酶多数属于这一类。而催化氧化还原作用的酶大多属于复合蛋白的酶。这类酶分子中，除了蛋白质外，还有一些对热稳定的非蛋白质的小分子物质，前者称酶蛋白，后者称辅助因子，可分二类，即辅酶和辅基，它们是酶催化的必要条件，缺少了它们，酶的催化作用就消失，当这些酶起催化作用时，一定要有酶蛋白和辅酶(或辅基)同时存在才起作用，二者各自单独存在时，均无催化作用。

辅酶和辅基二者只是根据它们与酶蛋白结合的松紧程度不同而分的，并没有太严格的区别。通常辅酶是指与酶蛋白结合得比较松的小分子有机物，往往用透析方法可以除去，如辅酶 I、辅酶 II 等。辅基是指与酶蛋白结合比较紧密的小分子物质，用透析法不易除去，需经过一定的化学处理才可与蛋白分开，如过氧化氢酶中的铁卟啉，多酚氧化酶中的铜，都属于辅基。辅基这一名词在生化中还含有更广泛意义，一些非酶的复合蛋白如血红蛋白的血红素部分也常称为辅基。酶蛋白和辅酶(辅基)之间的克分子比例通常是 1:1，当辅酶(或辅基)不足时，酶活力也不足，但辅酶(辅基)量超过这比例时，酶活力也不会增高。每一种需要辅酶(辅基)的酶蛋白往往只能与一特定的辅酶(辅基)结合，即酶对辅酶(辅基)的要求是有一定专一性，当换以另一种辅酶(辅基)就不具活力，如醇脱氢酶需要辅酶 I，换以辅酶 II 就不行。但生物体内辅酶(辅基)种类不多，而酶的种类却很多，故同一种辅酶(辅基)往往可以与多种不同的酶蛋白结合而显示出多种不同的催化作用，如 3-磷酸甘油醛脱氢酶、醇脱氢酶、乳酸脱氢酶都需要辅酶 I，各自催化不同底物脱氢。这说明这类酶催化的专一性主要决定于酶蛋白部分。辅酶(辅基)在酶催化作用中，通常是作为电子、原子或某些化学基团的传递者。

与酶催化活力有关的非蛋白物质除了上述辅酶、辅基外，还有激活剂(或称活化剂)，它

与辅酶、辅基的区别在于：当辅基、辅酶不存在时，则酶不呈现任何活力。而当没有激活剂存在时，酶虽然活力很低，但仍表现一定的活力。因此激活剂通常是指能提高酶活力的一些简单化合物。酶对激活剂的要求常常是非专一性的，一些结构类似的激活剂常有同样的激活作用，如唾液淀粉酶的活力可以被一类阴离子如 Cl^-、Br^-、I^-、NO_3^- 等激活，其中以 Cl^- 的激活作用最强。

(3) 上面提到酶蛋白在催化作用中起着决定的作用，但直接参与催化作用的并不是整个酶蛋白分子，而往往只是酶蛋白分子中的一小部分，这一小部分称为"活性(力)中心"(或活性部位)。现在认为酶进行催化作用时，首先要和被作用物(即底物)结合形成一中间络合物，然后这中间络合物再转变为产物和酶。因此，酶分子的活性中心通常是指酶分子上直接与底物结合并与酶催化作用直接有关部位，是由酶分子上某些氨基酸残基的侧链基团共同构成的。这些基团相对地分为二类，即参与和底物结合的"结合基团"，以及直接参与催化反应的"催化基团"，两者对酶的活力都是必需的，前者决定酶的专一性，后者决定酶的催化能力。

第二节　酶的分类及其在实践中的应用

目前已研究的酶有近 2000 种，国内外应用于生产实践的有 120 种左右，其中半数以上是供临床化验、医药或生化分析用的，应用于工业上的仅 40～50 种。

国际酶学委员会根据各种酶所催化反应的类型，把酶分为六大类，即氧化还原酶类、转移酶类、水解酶类、解合酶类、异构酶类、合成酶类。在每一大类中，再分为若干亚类，每一亚类再分为若干亚亚类，每一亚亚类直接包括若干种具体的酶。

每一种酶在这分类系统中的位置用特定的四个数字组成的编号表示。如醇脱氢酶为 E. C, 1.1.1.1, 谷丙转氨酶为 E. C, 2.6.1.2, 胰蛋白酶为 E. C, 3.4.4.4。其中 E. C 代表国际酶委员会，编号中第一个数字表示这酶所属的大类，如 1 代表氧化还原酶类，2 代表转移酶类，3 代表水解酶类，4 代表解合酶类，5 代表异构酶类，6 代表合成酶类等。编号中的第二个数字表示这酶属于哪一亚类，在氧化还原酶类中则这数字表示底物中发生氧化的基团性质，如 1 表示醇基，2 表示醛基或酮基。编号中的第三个数字表示这酶属于哪一亚亚类，在氧化还原酶类中表示氢或电子的受体类型，如 1 代表受体为辅酶 I 或辅酶 II，2 代表细胞色素。根据这三个数字就可知道该酶的催化类型和性质，例如醇脱氢酶编号为 1.1.1.1，是指氧化还原酶类，底物发生氧化的基团是醇基，氢的受体是 CoI。至于编号中的第四个数字，只是表示该酶在亚亚类中的位置。由于每一种酶都有特定的编号，故可从编号了解该酶的类型和性质。下面按各大类分别介绍一些具体的酶及其应用。

一、氧化还原酶类

是一类催化氧化还原反应的酶，包括的数量最大，大致可分为氧化酶和脱氢酶二类，一般来说，氧化酶催化的反应都有氧分子直接参与，脱氢酶所催化的反应中总是伴有氢原子的转移。这一大类酶负有生物氧化的功能，是一类获得能量反应的酶，都需要有辅基或辅酶参加。

1. 脱氢酶类

催化直接从底物上脱氢的酶，催化的反应可用下面通式表示：

$$A \cdot 2H + B \rightleftharpoons A + B \cdot 2H$$

这类酶需要辅酶 I(用 NAD^+ 或 CoI 表示)或辅酶 II (用 $NADP^+$ 或 CoII 表示)，起受氢体或供氢体的转氢作用。因为生物体内脱下的氢往往不是直接以氢分子放出的，多数情况下是将这一对氢传递给另一个受体，再经过一系列中间传递体，最后再传到氧。例如醇脱氢酶作用于乙醇，使乙醇脱氢成乙醛，而放出的 2H 交给辅酶 I，使之成为还原状辅酶 I(用 CoI·2H 或 $NAPH^+ + H$ 表示)。

$$CH_3CH_2OH + CoI \rightleftharpoons CH_3CHO + CoI \cdot 2H$$

上面这反应是可逆的，同样可催化乙醛加氢还原成乙醇的反应。酵母菌发酵生成酒精的过程中最后一步就是由此酶催化，将乙醛还原成乙醇。

又如 6-磷酸葡萄糖脱氢酶要求辅酶 II 参加传递氢的作用。

2. 氧化酶类

有二种类型。

(1) 催化底物脱氢，并氧化生成 H_2O_2，又称需氧脱氢酶。

$$A \cdot 2H + O_2 \rightleftharpoons A + H_2O_2$$

这类酶需要黄素核苷酸(如 FAD 或 FMN)为辅基。由于酶蛋白和辅基结合得很紧，通常这类酶又称黄素蛋白，如葡萄糖氧化酶属于这一类。

葡萄糖氧化酶的每个酶分子中含有两分子 FAD(黄素腺嘌呤二核苷酸)作为受氢体，催化葡萄糖氧化生成葡萄糖酸，并产生过氧化氢：

$$\begin{array}{l} CHO \\ | \\ (CHOH)_4 \\ | \\ CH_2OH \end{array} + O_2 + H_2O \longrightarrow \begin{array}{l} COOH \\ | \\ (CHOH)_4 \\ | \\ CH_2OH \end{array} + H_2O_2$$

作用时，葡萄糖脱下的氢先交给 FAD，使之成 FAD·2H，然后 FAD·2H 与氧作用，生成 H_2O_2。

此酶我国已从点青霉 P87 和金黄色青霉菌 Q176 二菌种发酵生产，从点青霉发酵所得的为葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶的混合制剂。

葡萄糖氧化酶对 D-葡萄糖有高度专一性，因此它可以选择性地氧化混合物中的葡萄糖，使转变成酸，起“去氧脱糖”作用。在制造蛋白干片时，由于鸡蛋清中含少量葡萄糖，能引起蛋白干片变质、变色。目前已应用葡萄糖氧化酶和过氧化氢酶的混合酶制剂来脱除蛋清中的葡萄糖的新工艺，代替了旧的自然发酵的方法，提高了产品质量，又缩短了生产周期。食品罐头中氧气存在会引起色香变质和罐身腐蚀，如用此酶处理后，可延长食品保存期。

此外，葡萄糖氧化酶又可作为工具酶用以检查和定量测定生物材料中的葡萄糖，如医学上此酶与过氧化物酶联合使用下，可检验尿糖和血糖。将这二种酶和邻联甲苯胺色素一起做成尿糖试纸，在病人的尿样品中浸湿，当样品中有葡萄糖存在时，试纸立即由无色变为蓝色。这是由于葡萄糖氧化酶选择性地氧化了尿中的葡萄糖，所产生的 H_2O_2 再在过氧化物酶作用下使无色的邻联甲苯胺氧化成蓝色的氧化态邻联甲苯胺。根据蓝色的深浅，可判断葡萄糖的含量。方法简易，携带方便，适用于农村医疗事业。

$$H_2O_2 + \text{邻联甲苯胺} \xrightarrow{\text{过氧化物酶}} \text{氧化态邻联甲苯胺} + H_2O$$

（无色）　　　　　　　　　　（蓝色）

(2) 催化底物脱氢，并氧化生成水。

$$A \cdot 2H + O_2 \rightleftharpoons A + H_2O$$

以 Cu 为辅基的多酚氧化酶、以血红素为辅基的细胞色素氧化酶都属这一类。多酚氧化酶又称酪氨酸酶，催化含酚基的化合物如酪氨酸、酚类等氧化成醌，然后这醌类物再经一系列脱水、聚合等反应，最后生成黑色物质。此酶专一性不强，单酚、多酚都能氧化。

酪氨酸 $\xrightarrow{O_2}$ 多巴 $\xrightarrow{O_2}$ 多巴醌 $+H_2O$ → 棕红色中间物 → → 黑色素

酪氨酸　　多巴（3，4-二羟苯丙氨酸）　　多巴醌

多酚氧化酶在植物中分布较广，马铃薯、香蕈、蘑菇、茶叶、漆树乳汁中都含有相当多的多酚氧化酶，切开马铃薯，在空气中暴露一段时间后，切面变黑褐色，便是此酶使马铃薯中的酚类物质氧化的结果。此酶广泛存在于生物界，在植物呼吸中起一定作用。高等动物的皮肤、毛发、角膜中的黑色素也是由此酶氧化酪氨酸等所生成的产物。白化病患者皮肤、毛发缺乏此酶，不能形成黑色素，故全身粉白，这是一种先天性的遗传病。在昆虫血淋巴和表皮中有此酶，对表皮硬化和黑化起重要作用。

近年来在三废处理中，已试制出用多酚氧化酶经固相化后做成的酶柱，可用以检出废水中 20 ppm 以上的酚含量。

在氧化还原酶这大类酶中，还有过氧化酶和加氧酶。过氧化酶催化以 H_2O_2 为氧化剂的氧化还原反应，是一些以血红素为辅基的酶，如过氧化物酶、过氧化氢酶。加氧酶催化有机物直接加氧的反应，如羟化酶在 CoI(或 CoII)参与下催化加氧使底物羟基化。其中有不少羟化酶如类固醇 11-α-羟化酶、11-β-羟化酶是与类固醇激素形成有关，医药工业上利用 11-β-羟化酶，从 11-脱氧可的松制造氢化可的松。

11-脱氧可的松 $\xrightarrow{11-\beta\text{羟化酶}}$ 氢化可的松

生物细胞内的氧化还原酶种类很多，但目前应用到生产上的还不多。

二、转 移 酶 类

这类酶能催化化合物中某些基团的转移，即一种分子上的某一基团转移到另一种分子上去的反应。用下面通式表示：

$$A \cdot X + B \rightleftharpoons A + B \cdot X$$

如谷丙转氨酶(简称 GPT)便属于转移酶类中的转氨基酶。此酶需要磷酸吡哆醛为辅基,使谷氨酸上的氨基转移到丙酮酸上,使之成为丙氨酸,而谷氨酸则成为 α-酮戊二酸。谷草转氨酶(GOT)为谷氨酸与草酰乙酸之间的转氨基酶。

$$\underset{\text{谷氨酸}}{\begin{array}{c} COOH \\ | \\ (CH_2)_2 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array}} + \begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ COOH \end{array} \underset{}{\overset{\text{谷丙转氨酶}}{\rightleftharpoons}} \underset{\alpha\text{-酮戊二酸}}{\begin{array}{c} COOH \\ | \\ (CH_2)_2 \\ | \\ C{=}O \\ | \\ COOH \end{array}} + \underset{\text{丙氨酸}}{\begin{array}{c} CH_3 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array}}$$

以上二酶在医学上用来作为检验肝功能的一个指标,转氨酶在肝细胞中含量高,当肝细胞由于各种原因遭到损害以致发炎、坏死时,转氨酶被释放到血液中,于是引起血液中此酶浓度升高,测定转氨酶是肝功能试验中较灵敏的方法之一,但此酶不仅存在于肝细胞中,心脏、皮肤等组织中也有,当这些组织发生病变损坏时,血液中转氨酶活力也会增加,不过不如肝病那样显著。

在这一大类中还有转磷酸基、转酰基、转甲基、转酮基、转糖苷基、转含硫基的酶。如已糖激酶为转移磷酸基的酶,催化以下反应:

$$ATP + D\text{-葡萄糖} \longrightarrow 6\text{-磷酸-葡萄糖} + ADP$$

由于反应过程中往往伴随着能量转移,故习惯上称某某激酶。

三、水解酶类

这类酶催化的是加水分解作用,可用下面简式表示,式中 A-B 代表催化的底物:

$$A\text{-}B + HOH \rightleftharpoons AOH + BH$$

水解酶类大都属于细胞外酶,在生物体内分布最广,数量也最多。目前生产上被应用的酶大多数属于这一类。

水解酶类一般不需要辅酶、辅基,但某些金属离子对这类酶的活力有一定影响。通常用"底物名称+酶"的方式来命名,如淀粉酶、蛋白酶等,在进一步区别时,有时加上酶的来源,如胃蛋白酶、胰蛋白酶。这类酶根据所水解的键的类型不同,可分为好几个亚类,如水解酯键的酯酶类;水解肽键的蛋白酶或肽酶;水解糖苷键的糖苷酶类。下面介绍几种常见的酶。

1. 酯酶类

催化各种酯键水解。通常有催化羧酸酯和磷酸酯水解的二类酶。

催化羧酸酯的酶中,最常见的如脂肪酶,催化甘油三酯水解为甘油和脂肪酸,此酶专一性较低。

$$\begin{array}{l} CH_2{-}O{-}CO{-}R_1 \\ | \\ CH{-}O{-}CO{-}R_2 \\ | \\ CH_2{-}O{-}CO{-}R_3 \end{array} + H_2O \rightleftharpoons \begin{array}{l} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + \begin{array}{l} R_1COOH \\ R_2COOH \\ R_3COOH \end{array}$$

脂肪酶存在于人和动物的消化液、植物种子和多种微生物(根霉、黑曲霉、白地霉)内。

医药上作为消化剂。工业上用此酶来精炼绢纺、羊毛脱脂等。

磷酸酯酶催化磷酸酯键水解，可分为磷酸单酯酶($R_2=H$)和磷酸二酯酶：

$$R_1-O-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-O-R_2+H_2O \rightleftharpoons R_1OH+HO-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{\underset{\underset{\displaystyle OH}{|}}{P}}-O-R_2$$

常见的磷酸单酯酶有专一性较低的酸性磷酸酯酶和碱性磷酸酯酶。患有前列腺癌的病人血清中酸性磷酸酯酶活力升高，临床常用来作为诊断前列腺病变的指标。而血清碱性磷酸酯酶活力的测定，在临床诊断骨胳病变或肝胆病变，特别是对梗阻性黄疸和肝癌的诊断上占重要地位。

在磷酸二酯酶中，则包括催化核酸水解的一系列酶，如从蛇毒、桔青霉中来的5′-磷酸二酯酶，从脾脏、红酵母中来的3′-磷酸二酯酶、RNA酶、DNA酶等。

2. 糖苷酶类

催化各种类型的糖苷化合物水解，有淀粉酶、纤维素酶、半纤维素酶、果胶酶、溶菌酶、右旋糖酐酶、蔗糖酶等。

(1) **淀粉酶** 这是目前生产上应用最广泛的酶，催化淀粉中糖苷键的水解。各种生物中的淀粉酶种类很多，有胰淀粉酶、唾液淀粉酶、麦芽淀粉酶、细菌淀粉酶等。根据它们对淀粉作用方式不同，主要有四种类型，即α-淀粉酶、β-淀粉酶、葡萄糖淀粉酶和异淀粉酶。

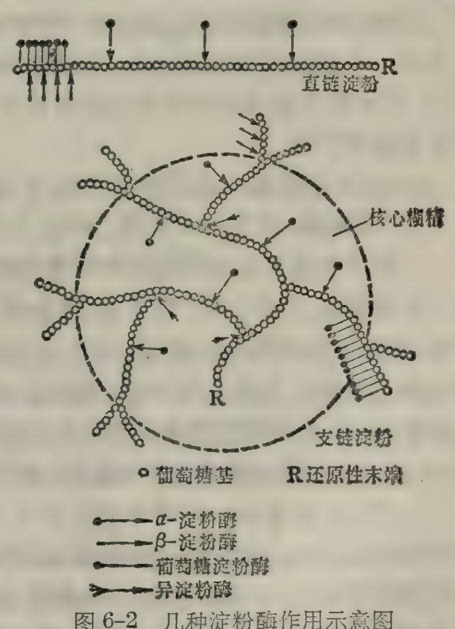


图6-2 几种淀粉酶作用示意图

1) α-淀粉酶：能任意水解含3个或更多D-葡萄糖的多糖中的α-1, 4-糖苷键，但不能水解α-1, 6-糖苷键。水解直链淀粉时，先切开淀粉分子中间部分的α-1, 4-糖苷键，使长链淀粉很快分解为短链的糊精，糊精再继续水解，最后产物为α-麦芽糖和少量葡萄糖，如图6-2所示。由于此酶水解淀粉时，在反应开始不久就使淀粉断裂为分子量小的糊精，使淀粉溶液的粘度迅速下降，与碘的反应消失，故通常又称此酶为液化淀粉酶。

此酶作用于支链淀粉时，由于它不能水解分支点的α-1, 6-糖苷键，因此作用的产物中不仅有麦芽糖和少量葡萄糖，还留下有异麦芽糖。异麦芽糖是支链淀粉分子的分支点，是由

(结构式：CH_2OH、O、OH、OH、OH、O、CH_2、O、OH、OH、OH、OH)

异麦芽糖

二个葡萄糖以α-1, 6-糖苷键相连的双糖。

α-淀粉酶在人的唾液、胰脏中，蟑螂涎腺中，麦芽、芽孢杆菌、枯草杆菌、黑曲霉、米曲霉中都有。我国酿造和饴糖生产中所用的液化酶就是枯草杆菌 BF7658α-淀粉酶，生产上常用添加 Ca^{++} 起激活和稳定作用。

2) β-淀粉酶：只能水解 α-1, 4-糖苷键，不能水解 α-1, 6-糖苷键，作用是从淀粉链的非还原性一端开始，依次切下一个麦芽糖分子。当作用于直链淀粉时，可全部被水解为麦芽糖(如图 6-2)，当作用于支链淀粉时，也是从各分枝的非还原性一端开始，依次切下一个麦芽糖，但分解到 α-1, 6-糖苷键的分支处，就停止不前，因此作用结果，分支的直链部分水解成麦芽糖，而分支点附近及内侧不能水解而残留下来，这残留物称核心糊精(或称极限糊精)，与碘成粉红色反应。

由于 β-淀粉酶水解淀粉时，一开始就有麦芽糖分解出来，故生产上有时也称它为糖化酶。此酶主要存在于高等植物种子如麦芽中，大豆、甘薯中也都有存在，另外，少数细菌和霉菌也能产生此酶。

3) 葡萄糖淀粉酶：此酶作用是从淀粉的非还原性一端开始，每次依次切下一个葡萄糖分子，它不仅可以水解 α-1, 4-糖苷键，也可水解 α-1, 6-糖苷键(见图 6-2)，但水解速度慢些，故此酶可把直链淀粉和支链淀粉全部转变成葡萄糖。这类酶主要由根霉、黑曲霉、红曲霉等菌所产生。

4) 异淀粉酶：只作用于 α-1, 6-糖苷键，使支链淀粉切成短段的直链糊精，故又称淀粉-1, 6-糊精酶，存在于马铃薯、酵母、某些细菌和霉菌中，生产上用此酶制造糯米纸和饴糖。

淀粉酶制剂已成功地应用在葡萄糖制造工业和纺织工业上。过去大多用酸法水解淀粉生产葡萄糖，但得率低，纯度差，设备要求高，要用精制淀粉。目前某些单位已改用酶法制取葡萄糖，不但转化率达 96% 以上，而且还可用粗原料代精制淀粉，降低了成本，产量和质量也都有提高。用酶法生产葡萄糖时，一般用二种酶配合使用，先用枯草杆菌的 α-淀粉酶进行液化，然后再用根霉或曲霉产生的葡萄糖淀粉酶进行糖化。一般根霉所分泌的酶系较单一，不产生转葡萄糖苷酶，对淀粉的糖化率可达 97～100%。

(2) 纤维素酶　主要作用于 β-1, 4-糖苷键。它不是一种单一的酶，是由一类水解纤维素生成纤维二糖和葡萄糖的酶的总称。现在认为是由三种酶——即 C_1、C_x 和 β-葡萄糖糖苷酶组合在一起的，水解纤维素时，先由 C_1 酶将天然纤维素分解成直链的纤维素片段；由 C_x 酶水解直链纤维素成为纤维二糖；再由 β-葡萄糖糖苷酶水解成葡萄糖。反应过程简述如下：

直链纤维素

天然纤维素 —C_1酶→ (CH₂OH, OH, HO ... 结构式) ……

C_x酶 ↓

β-葡萄糖 ←β-葡萄糖糖苷酶— 纤维二糖

纤维素是植物细胞壁的主要成分，占植物总重的一半，是地球上最丰富的有机物，是对人类有用且潜力很大的自然资源。分解纤维素的酶主要存在于植物和各种微生物以及某些昆虫中，人类由于消化道中没有消化纤维素的酶，因此不能将纤维素作为食物，而一些食草的反刍动物的消化道内，由于有一些共生的细菌和原生动物能分泌纤维素酶，使纤维素水解成可吸收的物质。很多昆虫生活在木材中，其中大多数种类如白蚁等，是由于消化道中含有原生动物和细菌的群体，故能水解纤维素，少数昆虫能自己产生纤维素酶，如甲虫等。这些从微生物产生的纤维素酶和其他酶一起作用可以使木材、果蔬、棉织品、纸张等腐烂。但另一方面也可利用微生物中的纤维素酶来分解纤维素，使农副产品转变为优质饲料或用于生产葡萄糖和造纸工业上。

(3) **其他常见的糖苷酶** 溶菌酶水解粘多糖、粘多肽中 N-乙酰胞壁酸和 N-乙酰氨基葡萄糖之间连接的 β-1, 4 键，能使某些细菌胞壁中粘多糖成分分解，因而具有溶菌能力。

果胶酶是催化植物细胞间质即果胶质水解成半乳糖醛酸和果胶酸的一类酶。

右旋糖酐酶催化 α-1, 6-葡萄糖糖苷键的水解，又称葡聚糖酶。

蜜二糖酶（即 α-半乳糖苷酶）切断 α-1, 6-半乳糖苷键，催化棉籽糖水解为半乳糖和蔗糖，此酶广泛存在于植物种子和细菌、霉菌中。蔗糖酶水解蔗糖成为果糖和葡萄糖。

这些酶在实践中都有生产和应用。

3. 肽酶类

即蛋白水解酶类，它的作用是将蛋白质肽链中的肽键水解，使蛋白质成为多肽和氨基酸。

$$\cdots\underset{\displaystyle R_1}{\underset{|}{\text{HNCHCO}}}\text{—}\underset{\displaystyle R_2}{\underset{|}{\text{NHCHCO}}}\cdots \xrightarrow{+H_2O} \cdots\underset{\displaystyle R_1}{\underset{|}{\text{HNCHCOOH}}} + \underset{\displaystyle R_2}{\underset{|}{\text{H}_2\text{NCHCO}}}\cdots$$

蛋白水解酶种类很多，来源很广，人和动物消化器官中有胃蛋白酶、胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、羧肽酶、氨肽酶等，某些植物的果实中含有丰富的蛋白酶，如木瓜蛋白酶、菠萝蛋白酶、无花果蛋白酶。细菌、霉菌、放线菌也产生蛋白酶。这些蛋白酶虽都能分解肽键，但它们的专一性不同，如前面所述它们并不是对所有肽键都能水解，如胰凝乳蛋白酶要求肽键的羧基端是一个芳香族氨基酸才起作用。

根据水解蛋白质的方式又可分为内肽酶、外肽酶二类。内肽酶一般通称蛋白酶，能切开蛋白质多肽链内部的肽键，使蛋白质成为分子量较小的多肽碎片，目前生产上用的蛋白酶制剂主要是内肽酶。外肽酶又称端肽酶或简称肽酶，可以分别从蛋白多肽链的游离羧基端或游离氨基端逐一地将肽键切开生成氨基酸，作用于氨基端的称氨肽酶，作用于羧基端的称羧肽酶。在体内这二类酶非常有效地协同作用，由内肽酶将蛋白质切成许多多肽碎片，再由外肽酶作用到产生氨基酸为止。

微生物中蛋白酶常根据酶作用的最适 pH 范围分为酸性、中性、碱性蛋白酶。

生物体内产生的蛋白酶含量较高，早年蛋白酶制品大都从动物内脏和植物果实中提取，但原料有限。目前蛋白酶制剂主要由微生物发酵生产所得，微生物酶制剂工业在国内外已广泛发展起来。目前已具一定生产规模的蛋白酶制剂，有枯草杆菌 1.398 中性蛋白酶，栖土曲霉 3942 中性蛋白酶，地衣芽孢杆菌 2709 碱性蛋白酶等。

蛋白酶制剂在医药上应用比较早，如用胃蛋白酶治消化不良症。外科用胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶来消肿和消炎，消除坏死组织，促进创口愈合。由 β-溶血性链球菌发酵后提取精

制得到的链激酶也是种蛋白酶，能将血液中纤维蛋白酶原激活成纤维蛋白酶，从而由此酶去水解不溶性的纤维蛋白，使之成为可溶性的小分子的多肽，达到溶血栓和血块的作用。

蛋白酶在工业上应用较广，如皮革工业上用蛋白酶代替石炭-硫化碱的老传统，脱去动物皮上的毛；纺织工业上用蛋白酶脱丝胶；医药工业上用蛋白酶水解酪蛋白或鱼粉，制造水解蛋白和蛋白胨；日化工业中的加酶洗涤剂中，由于加入碱性蛋白酶后易于除去洗涤物上的蛋白污垢。

四、解 合 酶 类

这类酶催化一个化合物分解为几个化合物或其逆反应，简式如下：

$$A\cdot B \rightleftharpoons A+B$$

1. 醛缩酶

广泛存在于各种生物细胞内，是糖代谢过程中一个很重要的酶，使六碳糖分裂为二个三碳糖。

$$\begin{array}{l} \qquad\quad\ O \\ \qquad\quad\ \| \\ CH_2O-P-OH \\ | \qquad\quad | \\ C=O \quad OH \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \quad O \\ | \qquad\quad \| \\ CH_2O-P-OH \\ \qquad\quad\ | \\ \qquad\quad\ OH \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{l} \qquad\quad\ O \\ \qquad\quad\ \| \\ CH_2O-P-OH \\ | \qquad\quad | \\ C=O \quad OH \\ | \\ CH_2OH \end{array} + \begin{array}{l} CHO \\ | \\ CHOH \quad O \\ | \qquad\quad \| \\ CH_2O-P-OH \\ \qquad\quad\ | \\ \qquad\quad\ OH \end{array}$$

1，6-二磷酸果糖　　　磷酸二羟丙酮　　　3-磷酸甘油醛

2. 天冬氨酸酶

催化非氧化性的脱氨反应，使天冬氨酸脱氨生成延胡索酸。

$$\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array} \rightleftharpoons \begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH \\ \| \\ HC \\ | \\ COOH \end{array} + NH_3$$

生产上利用三叶极毛杆菌的天冬氨酸酶，可以使延胡索酸在中性条件下转变为天冬氨酸。

五、异 构 酶 类

这类酶催化同分异构化合物之间的互相转化，即分子内部基团的重新排列。简式如下：

$$A \rightleftharpoons B$$

1. 葡萄糖异构酶

催化葡萄糖转变为果糖的反应，由于葡萄糖的甜度只有蔗糖的70%，用淀粉生产葡萄糖不能代替蔗糖，而此酶可使葡萄糖转变为高甜度的果糖，以提高食品甜度。目前生产上已

应用葡萄糖异构酶使葡萄糖制成果糖与葡萄糖的混合糖浆。

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \end{array} \underset{}{\overset{\text{异构酶}}{\rightleftharpoons}} \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ C{=}O \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

2. D-氨基酸外消旋酶

可使D-氨基酸外消旋变成L-氨基酸。如普通变形杆菌中的赖氨酸外消旋酶，可以用来把D-赖氨酸转变为L-赖氨酸。利用发酵乳酸杆菌的谷氨酸外消旋酶，可以使D-谷氨酸转变为L-谷氨酸。

六、合成酶类

一般是指有三磷酸腺核苷(ATP)参加的合成反应。这类酶关系着许多重要生命物质的合成。简式如下：

$$A + B + \underset{(\text{或}AMP)}{ATP} \rightleftharpoons A{\cdot}B + ADP + \underset{(\text{或无机焦磷酸})}{\text{无机磷酸}}$$

1. 谷氨酰胺合成酶

催化谷氨酰胺合成：

$$\underset{L\text{-}Glu}{\begin{array}{c} COOH \\ | \\ (CH_2)_2 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array}} + NH_3 + ATP \longrightarrow \underset{L\text{-}Gln}{\begin{array}{c} CONH_2 \\ | \\ (CH_2)_2 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \end{array}} + ADP + H_3PO_4$$

2. L-丙氨酰 tRNA 合成酶(L-Ala-tRNA 合成酶)

催化L-Ala-tRNA的形成，这类酶在蛋白质生物合成中起重要作用。

$$ATP + \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_3 \end{array} + tRNA \rightleftharpoons AMP + \text{焦磷酸} + L\text{-}Ala\text{-}tRNA$$

第三节 酶的活力测定

要定性鉴定某一酶是否存在，一般是根据此酶所引起的化学变化来判断。如唾液可以分解淀粉成糊精，可用碘的蓝色反应检查之。当淀粉液中加入唾液后，如碘的蓝色反应消失，说明唾液中含有分解淀粉的酶，这是酶的定性测定。

酶的活力测定，实则上也就是酶的定量测定，这是进行酶工作时的一个基本问题。例如生产蛋白酶制剂时，要了解发酵液中酶的含量；用盐析法使酶充分沉淀，就要了解有多少蛋白酶已沉淀，还有多少蛋白酶留在上清液中；最后实际得到多少酶要计算收得率。在酶的分

离纯化过程中要跟踪酶的去向；要及时了解酶有否变性失活，从而改变条件或方法。医药上用酶来治疗某种疾病，应当用多少酶量；临床诊断要鉴定血液或尿液中某些酶的含量。工业生产上用酶法生产葡萄糖，要用多少液化酶，用多少葡萄糖淀粉酶。这一切都要进行酶的活力测定。

酶的多少能不能用重量单位或浓度单位来表示呢？不能。由于酶不易制成纯品，特别是工业上用的一些酶制剂中，常含有很多杂质，所以不能象化学药品那样直接用重量或体积来表示它的多少。一瓶酶制剂，看样子很多，也可能它含的酶量并不多，其他杂质却占了很大比例。另外，酶还有个失活问题，所以酶的真正含量必须用它催化某一特定反应的能力大小来表示。

一、活力和活力单位

活力就是酶催化一定化学反应的能力。酶的活力大小，可以用在一定条件下它所催化的某一化学反应的速度来表示。酶催化的反应速度愈大，酶的活力愈大，反应速度小表示此酶活力小。与一般化学反应一样，酶催化的反应速度可以用在一定时间内底物的减少或产物的增加来表示。故酶的活力测定，就是测定在一定条件下、一定时间内催化的某一化学反应所引起化学变化的量。由于在酶反应时，底物一般都是过量的，而且反应又不能进行得太久，因此底物减少的量仅占其总量的极小百分数，分析起来不易正确，相反产物从无到有，只要测定方法足够灵敏，就可以准确测定。所以测定化学变化的量通常以测定产物的增加为好。

酶活力大小即酶的量用什么来表示呢？用单位(u)表示，单位数目大，表示酶的活力大，也就是这酶制品中酶的含量高，这样酶的量就可以用每毫升含有多少单位或每克酶制剂含有多少单位来表示(单位/毫升、单位/克)。

单位的定义是：在一定条件下，一定时间内将一定量的底物转化为产物的酶量，定为一个单位。1964 年国际生化协会统一规定，在一定条件下，1 分钟内将 1 微克分子的底物转化为产物的酶量为一个单位。但实际应用时常感到太繁琐，往往采用各自规定的单位。

例如蛋白酶的单位规定为一分钟内将底物酪蛋白分解出相当于 1 微克 (μg) 酪氨酸的酶量定为一个单位($1\ \mu g$ 酪氨酸/分$=1$ u)。

淀粉酶的单位规定为每小时分解 1 克淀粉的酶量定为一个单位 (1 g 淀粉/时$=1$ u)；有的部门则采用每小时分解 1 毫升 2% 的淀粉溶液的酶量为一个单位 ($1\times2\%$ 淀粉/时$=1$ u)。

单位是规定在一定条件下(pH、温度、底物浓度等)酶的催化能力，当条件改变时，单位的意义也就不同。

所谓"一定条件"是指该酶作用时最合适的、能充分发挥这酶的活力的条件，如最适宜的酸碱度和最适宜的温度等。为什么要一定条件呢？因为酶的活力大小受到它反应的温度、pH、底物浓度等因素影响，当条件不同时，所测得的活力大小也不同。例如酶反应对温度十分敏感，从酶反应的温度系数看，温度每改变 1°C，反应速度可相差 10% 以上。为此，保持恒定的反应温度极为重要，要使测定的重复性高，温度要控制在 ±0.1°C 以内，一般测定的反应温度在 25～30°C 左右。又如 pH 对酶反应能产生多种影响，酶活力测定时必须选择

适宜的缓冲溶液，使反应严格控制在最适 pH 范围内进行，当 pH 不同或缓冲液不同时都会影响酶的活力。因此进行某种酶活力测定时，不但要求每次所用的条件一致，而且与其他工作部门也必须采用相同的条件，这样测定得到的单位数才有共同的意义。

由于每一种酶的活力测定的具体方法往往可以有好几种，如淀粉酶测定时，可以用与碘的蓝色反应消失，也可测还原糖的增加。胃蛋白酶的测定方法有十多种，不能等同起来。因此当应用任何一种酶制品时不能只看含多少单位，还要注意所用的单位是怎样计算的，是什么条件下测得的，用什么方法测定的。

二、测定酶活力的两种方式

1. 测定完成一定量反应所需要的时间

测定酶活力时，用时间作为指标。在一定条件下，在待测的酶液中加入一定量的底物，测定此底物全部作用完或部分作用所需的时间来计算酶活力。一般所需时间愈短，活力愈高，所需时间长则活力低，活力大小与作用时间成反比。用这种方式测定活力的酶并不多。

淀粉酶活力测定时，可以测定其达到无色点所需要的时间(淀粉与碘呈蓝色反应，当一定量的淀粉全部被淀粉酶分解成为与碘不起蓝色反应的小分子糊精时，称无色点，或称消色点)，因此，从淀粉的用量、达到无色点所需要的时间和样品稀释倍数就可以计算出酶的活力单位数。

例如：今有 1 克淀粉酶制剂，溶解在 1000 毫升水中，从中取出 0.5 毫升，与 20 毫升 2% 的淀粉溶液在 30°C、pH 6 的条件下一起作用，10 分钟后就与碘不起颜色反应，该酶制剂的活力单位按每 1 小时分解 1 克淀粉为 1 个单位(g/1 小时＝u)来计算，应为：

$$\frac{60}{10}\times 20\times 2\%\times\frac{1}{0.5}\times 1000=4800\ \text{单位/克酶制剂}$$

2. 测定一定时间内所起的化学反应量

这是酶活力测定的主要方式，用测定反应量来计算酶活力。主要是根据在一定条件下，酶反应速度与酶浓度成正比，测定反应速度就可求出酶的浓度。

测定结果的正确与否，即能否真实地反映酶活力，是和酶反应的条件是否适宜密切有关。适宜的条件是使所有的酶分子都能正常地发挥作用，反应条件中应使酶浓度是影响反应速度的唯一因素，而其他条件如 pH 和温度应保持最适水平。此外测定用的底物应当使用足够高的浓度，使酶催化的反应速度不受底物浓度的限制。为了测定简便，选用的底物最好在物理或化学性质上和产物有所区别。

下面以蛋白酶活力测定为例说明之。此酶的单位规定为在 30°C 和 pH 7.0 条件下，每分钟分解酪蛋白产生酪氨酸的微克数即为此酶的活力单位数。具体操作时，先取一定量的酶粉稀释液(稀释一定倍数)，加入一定量的底物酪蛋白溶液，在 30°C 水浴中保温 10 分钟后，立即加入蛋白变性剂三氯醋酸，使酶变性失活，中止酶的活动。由于蛋白酶作用于酪蛋白后，有酪氨酸分解出来，酪氨酸和福林试剂作用后生成蓝色物质，根据颜色的深浅，用比色计测定后，知道有多少微克酪氨酸分解出来，从而计算出每克酶制剂在每一分钟内可分解出多少微克的酪氨酸，便是含多少单位。

酶活力测定常用的具体方法有化学分析法、滴定法、比色法、吸收光谱法、萤光法、电化学法和量气法等，根据产物或底物的物理、化学特征来决定采用哪一种方法。

三、反应初速度的概念

前面提到酶活力测定可以测定一定时间内底物或产物的变化量，那么，作用多少时间最好呢？一般在酶活力测定时，要求作用时间短一些，最好在酶反应开始不久的一段时间内测定它所起的化学反应的总量，即测定反应的初速度。如上述蛋白酶活力测定时用10分钟的作用时间，其他酶也有只用5分钟或更短的作用时间，原则上是愈短愈好，只要测定的方法足够灵敏，可以反映出微量的变化就好了。这是因为酶所催化的反应，在反应开始不久的一段时间内，产物生成量与时间几乎成正比，但随着时间的增加，产物生成量与时间就不再成正比关系了。这可以从酶反应的进程曲线来说明。

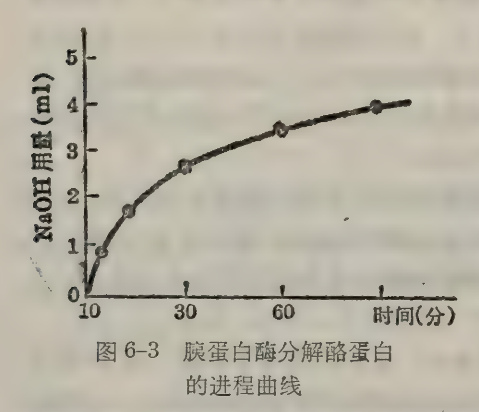


图6-3　胰蛋白酶分解酪蛋白的进程曲线

产物生成量(或底物减少量)与时间关系的曲线称进程曲线，如图6-3所示为胰蛋白酶分解酪蛋白的进程曲线，横坐标是时间，纵坐标是NaOH用量(表示由甲醛滴定法测定酶分解酪蛋白产生的游离氨基数)。因曲线的斜率表示单位时间内产物生成量的变化，所以曲线上任何一点的斜率就是该相应时间的反应速度。从图中可知曲线的斜率(即反应速度)在开始一段时间内几乎维持恒定，即产物生成量随反应时间而直线增加，但随着时间的延长，曲线渐渐平坦，斜率改变，反应速度逐渐降低，显然这时测得的反应速度不能代表真正的酶活力。

造成酶反应速度随时间延长而降低的这一现象，可能的原因很多，如底物浓度的降低；产物浓度的增加而加速了逆反应的进行；产物的抑制作用以及时间过长会影响酶本身的失活等。因此，为了正确表示酶的反应速度，就必须用曲线的反应初速度，即取产物生成量(或底物减少量)与时间关系成正比的一段时间来测定。在测定任何一种酶活力时，一般应先作进程曲线，然后根据这一曲线的直线部分求得初速度反应的时间范围，在这范围里测得的反应速度，可以代表此酶的活力。

第四节　酶反应的基本动力学以及影响酶作用的因素

酶是生物催化剂，它的主要特征就是能加快化学反应的速度，因此研究酶反应速度规律，即酶反应动力学，是酶研究中主要内容之一。由于酶反应都是在一定条件下进行的，受到各种因素的影响，因此酶反应动力学就是研究酶反应速度的规律以及各种因素对它的影响。由于酶反应相当复杂，这里仅介绍一些最基本的内容。

一、酶的中间络合物学说和米氏方程式

1. 底物浓度对酶反应速度的影响

在酶的研究应用中，人们很早就注意到底物浓度(用[S]表示)和酶浓度(用[E]表示)对

酶反应速度(用 v 表示)的影响。

当酶浓度不变时，研究底物浓度与酶反应速度之间有如图 6-4 的曲线关系。这曲线存在二相现象，可分为 OA 和 BC 二段。从曲线的前半段 OA，可看出当底物浓度低时，符合一级反应：

$$dp/dt=kE[S]$$

反应速度随着底物浓度增加而增加，反应速度与底物浓度近乎成正比。从曲线后半段 BC 来看，当底物浓度达到相当高时，底物浓度对反应速度的影响变小，最后反应速度与底物浓度几乎无关，反应达到最大速度，符合零级反应：$dp/dt=kE$。

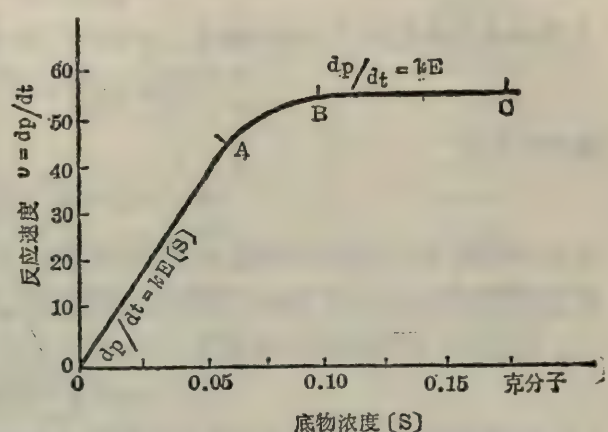


图 6-4　底物浓度对酶反应速度的影响

解释底物浓度和反应速度关系曲线的二相现象，目前比较普遍认为可以用中间络合物学说来说明。该学说认为当酶催化某一化学反应时，酶和底物先结合生成一个中间物(即中间络合物)，然后中间物再分解，生成产物和释放出酶。当以 S 表示底物，E 表示酶，ES 表示中间物，P 表示反应产物，反应可用下式表示：

$$S+E \rightleftharpoons ES \longrightarrow E+P$$

一般以反应产物的生成速度，代表整个酶催化的反应速度，而产物的生成速度决定于中间物的浓度，因此整个酶反应速度决定于中间物的浓度。

根据中间络合物学说推论，在底物浓度很低时，只有一部分酶能与底物结合成中间物，溶液中还有多余的酶没有与底物结合，因此随着底物浓度增加，也就有更多的酶与底物结合成中间物，中间物浓度大，产物的生成速度也就加快，整个酶反应速度也就增大，故在曲线的 OA 部分，增加底物浓度可以提高反应速度。从曲线的 BC 部分来看，当底物浓度比较高时，溶液中的酶全部与底物结合成中间物，虽再增加底物浓度也不会再有更多的中间物生成，底物浓度与反应速度几乎无关，反应达到最大反应速度。但是在这条件下，只有再增加酶浓度，才能增加中间物，使反应速度增大，因此在这条件下酶浓度与反应速度成正比关系。

2. 酶促反应速度的基本方程式——米氏方程式

米切利斯(Michaelis)和曼吞(Menten)从酶与底物先结合形成中间物然后再分解为产物这个假定出发，根据 E+S 与 ES 之间的平衡迅速达到的前提下，得到一个表示底物浓度与反应速度之间相互关系的方程式，称为米氏方程式。它是酶学上最基本的方程式。

根据中间络合物学说，酶反应可分(1)、(2)两步进行。

$$\underset{[E_t]-[ES]}{E} + \underset{[S]}{S} \overset{(1)}{\rightleftharpoons} \underset{[ES]}{ES} \overset{(2)}{\longrightarrow} E+P$$

上式中　$[E_t]$表示酶的总浓度；

$[S]$表示底物浓度；

$[ES]$表示酶和底物结合的中间物浓度；

$[E_t]-[ES]$表示未与底物结合的游离酶浓度。

酶反应的速度 v 由有效的酶浓度所决定，也就是由与底物结合成中间物的这部分酶[ES]所决定的，因此

$$v=k[ES] \tag{3}$$

式(3)中 k 为酶反应(2)的速率常数。设反应(1)的平衡常数为 K_m，可得

$$\frac{([E_t]-[ES])[S]}{[ES]}=K_m$$

整理后可得

$$[ES]=\frac{[E_t][S]}{K_m+[S]} \tag{4}$$

式(4)中[ES]和[E_t]的确切数值是不可能知道的，因为我们无从知道酶的克分子浓度，[ES]是中间物浓度，也不可能知道。因此必须设法将式(4)中的这两个未知数消去。

[ES]可以用式(3)代入而消除

$$v=k\frac{[E_t][S]}{K_m+[S]} \tag{5}$$

式(5)中的[E_t]可以这样消去：即当[S]无限增加时，全部酶都可以和底物结合，即[E_t]=[ES]，这时反应速度达到最大极限 V(即最大反应速度)，于是式(3)变为：

$$V=k[E_t] \tag{6}$$

将(6)代入(5)得：

$$v=\frac{V[S]}{K_m+[S]} \quad \text{或} \quad K_m=[S]\left(\frac{V}{v}-1\right)$$

上式通常即称米氏方程式，K_m 称米氏常数。

从米氏方程式可知，在一定条件下，酶促反应速度 v 可以用该反应的最大速度 V、底物浓度[S]和平衡常数 K_m 来表示。对于一个具体的酶反应来说，由于 V 和 K_m 都是常数，因此这公式表示了底物浓度[S]和反应速度 v 的关系。当用[S]作横坐标，v 作纵坐标，可作一条曲线(见图 6-5)，从这条曲线看出，当底物浓度较小时，反应速度与底物浓度几乎成正比关系。当底物浓度较大时，底物浓度对反应速度的影响变小，最后几乎没有影响，这时的反应速度已达到最大反应速度 V。说明了在达到最大反应速度之前，在反应体系中，还有一部分游离酶存在，当达到最大反应速度时，酶已全部与底物结合成中间物了。

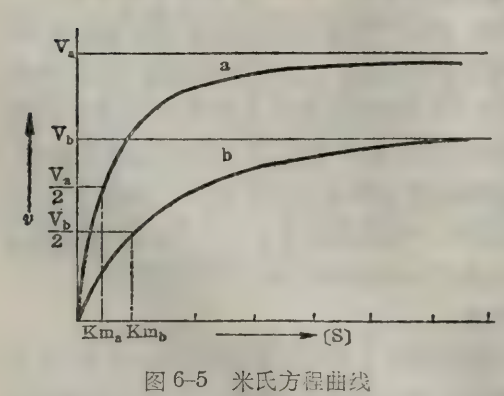


图 6-5 米氏方程曲线

这条曲线和上述用实验所得的曲线图 6-4 正巧一致，间接证明了中间物学说的正确性。

3. 米氏常数的意义和求法

从米氏方程式中可以看出，当反应速度相当于最大速度之半时，$v=\frac{V}{2}$，可以得到：

$$\frac{1}{2}=\frac{[S]}{K_m+[S]}, \quad K_m=[S]$$

因此 K_m 表示反应达到最大反应速度一半时的底物浓度，通常用 M 表示。

K_m 是酶的一个很基本的特性常数，它和酶浓度无关，但和 pH、温度等因素有关。对于

表 6-1　一些酶的米氏常数

酶	来　源	底　物	$K_m(M)$
蔗糖酶	酵　母	蔗　糖	2.8×10^{-2}
蔗糖酶	肠	蔗　糖	$1.6\sim4\times10^{-2}$
NADP-甘露醇脱氢酶	白地霉	甘露醇	6.23×10^{-3}
α-淀粉酶	人唾液	淀　粉	6×10^{-4}
尿酶	刀　豆	尿　素	2.5×10^{-2}
麦芽糖酶	麦　芽	麦芽糖	2.1×10^{-1}
过氧化氢酶	肝	H_2O_2	2.5×10^{-2}
琥珀酸脱氢酶	牛　心	琥珀酸盐	5×10^{-7}
谷氨酸脱氢酶	牛　肝	α-酮戊二酸	7×10^{-4}
谷氨酸脱氢酶	牛　肝	谷氨酸	1.1×10^{-3}

每一个酶促反应，在一定条件下，都有它特定的 K_m 值，故常用于鉴别酶。不同酶促反应的 K_m 值可相差十万倍之多，一般为 $10^{-3}\sim10^{-5}\,M$（表 6-1）。

有些专一性差的酶往往可作用于几种底物，就有几个 K_m 值，例如某一酶对底物 a 及 b 均有作用，所得的 [S] 与 v 之间关系是二条不同曲线，如牛乳黄嘌呤氧化酶对黄嘌呤和乙醛均有作用，但对黄嘌呤的 K_m 值为 $5\times10^{-5}M$，对乙醛的 K_m 值为 $2\times10^{-2}M$。

由于 K_m 是 ES 的解离常数，因此 K_m 的大小，可以说明酶与底物的结合情况，K_m 愈大，说明 ES 易解离，酶与底物的亲和力愈小。反之 K_m 愈小，酶与底物亲和力愈大。故 K_m 表示了一个反应中酶与底物的亲和力。

从 K_m 的大小，可以知道正确测定酶活力时所需要的底物浓度。在底物浓度不够高时，酶反应速度受到底物浓度的影响，酶不能充分发挥作用，所测得的活力也就大大低于真实的酶活力。只有当底物达到相当高的浓度，酶反应达到最大速度，使酶全部与底物结合，这样测得的酶活力才能代表酶的真正活力。因此从 K_m 大小可以知道在酶作用时，需要多少底物浓度才能达到最大反应速度。据研究当 $[S]=10\,K_m$ 时，可达到近 90% 的最大速度，当 $[S]=100\,K_m$ 时，则反应 99% 达到最大速度。因此 K_m 值较小的酶反应，只要较低的底物浓度就能使酶反应达到最大速度，而 K_m 值较大的酶反应，必须在较高的底物浓度下才能达到最大速度。

测定某一酶反应的 K_m 时，可以分别测定不同底物浓度的反应初速度，然后以 v 为纵坐标，[S] 为横坐标作图，从图上直接求出最大反应速度 V 和相应的 K_m 值，如图 6-5。

由于米氏方程是一个双曲线函数，直接用它来求出 K_m 和 V 是不方便的。因为当底物浓度逐渐增加时，反应速度仍有少量增加、反应很难达到最大速度，不易准确测得。

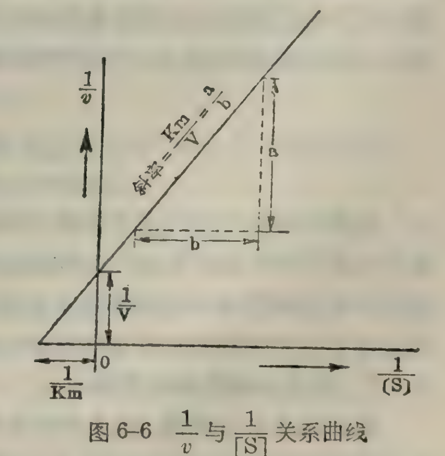


图 6-6　$\frac{1}{v}$ 与 $\frac{1}{[S]}$ 关系曲线

为了正确得到 V 值和 K_m 值，通常采用 Lineweaver-Burk 作图法，又称双倒数作图法。可以把米氏方程的形式加以改变，使它成为直线方程，那么 V 和 K_m 值就可以比较准确地求得。取米氏方程的倒数形式：

$$\frac{1}{v}=\frac{K_m}{V}\cdot\frac{1}{[S]}+\frac{1}{V} \tag{7}$$

这是一条相当于 $y=mx+b$ 的直线方程式，这里 $\frac{1}{v}$ 相当于 y，$\frac{1}{[S]}$ 相当于 x，用 $\frac{1}{[S]}$ 对 $\frac{1}{v}$ 作图即可得到图 6-6 所示的直线。

从方程式(7)可以看出当 $\frac{1}{[S]}=0$ 时，$\frac{1}{v}=\frac{1}{V}$；从图中也可看出，当 $\frac{1}{[S]}=0$ 时，直线在纵轴上的截距就是 $\frac{1}{v}$，也就是 $\frac{1}{V}$，因此即可求出 V 值。另外此直线的斜率为 $\frac{K_m}{V}$，在此图上任取两点求出 a 与 b 的长度，即可算出 $\frac{K_m}{V}=\frac{a}{b}$，知 V 及 $\frac{K_m}{V}$ 值，可算出 K_m 值。

或者，当 $\frac{1}{v}=0$ 时，则 $\frac{K_m}{V}\cdot\frac{1}{[S]}=-\frac{1}{V}$，即 $\frac{1}{K_m}=-\frac{1}{[S]}$，因此当我们知道相应于 $\frac{1}{v}=0$ 时的 $-\frac{1}{[S]}$ 值，即直线向左引伸与 $\frac{1}{[S]}$ 轴相交的截距，也就是 $\frac{1}{K_m}$ 值，可求出 K_m 值。

4．中间物的一些证据

关于酶催化反应时，酶和底物先形成中间络合物，现在已有直接实验证明：如过氧化氢酶、过氧化物酶都是一些含铁卟啉的酶，各自都有特殊的吸收光谱。当它们与底物在一起时，又可测得另一些波长的吸收光谱，说明有中间物存在。

如过氧化物酶，可催化 H_2O_2 去氧化另一有机物（如焦性没食子酸作供氢体 AH_2），使 H_2O_2 还原成水。

$$H_2O_2+AH_2 \longrightarrow A+2H_2O$$

此酶溶液呈红褐色，并在 645、583、548、498 毫微米处有四条吸收光带。当酶液中加入 H_2O_2 后，酶液颜色由褐变红，同时光谱也完全改变，在 561、530 毫微米处显出二条新的吸收光带，说明此酶与 H_2O_2 结合成了一个新的物质，如再加入焦性没食子酸，则 H_2O_2 被分解，焦性没食子酸被氧化，上述新物质的二条吸收光带消失，原来的四条吸收光带又重新出现，说明中间物又分解，这样的反应过程可用下式表示：

$$H_2O_2+\text{过氧化物酶} \longrightarrow (H_2O_2\text{-过氧化物酶})$$

$$(H_2O_2\text{-过氧化物酶})+\text{焦性没食子酸} \longrightarrow H_2O+\text{过氧化物酶}+\text{氧化性没食子酸}$$

目前有些酶反应的中间络合物已分离得到，以 D-氨基酸氧化酶为例，它是以 FAD 为辅基，氧化型时呈黄色，全还原型时无色。当该酶与底物 D-丙氨酸或类底物苯甲酸等结合后的中间物则呈紫色，而且这中间物的吸收光谱与氧化型或还原型的该酶都不同。这种中间物可以在无氧和不适于进行反应的条件下分离纯化并结晶出来。

二、影响酶作用的因素

酶催化的反应受到各种因素的影响，如温度、氢离子浓度、酶浓度、底物浓度以及有关抑制剂、激活剂的存在等，它们都能显著地影响酶催化的反应速度，甚至使酶失去催化能力。这些因素对酶催化作用的影响是错综复杂的，相互联系又相互制约的，为了叙述方便，下面将逐个讨论各个因素为什么和怎样影响着酶的催化作用。

1．温度对酶作用的影响

酶对温度极为敏感，绝大多数酶在 60°C 以上即失活，在低温时酶促反应进行缓慢。温度对酶作用的影响可用图 6-7 表示，当温度为 0°C 时，反应速度接近于零；温度逐渐升高时，反应速度也逐渐加快，但温度再继续升高，反应速度就很快下降。

(1) *最适温度*　每一种酶，在一定条件下，只有在某一个温度下才表现出最大活力，这

个温度称为该酶作用的最适温度。故最适温度就是在一定条件下酶反应速度最大时的温度。各种酶在一定条件下，都有它的最适温度，一般讲，动物细胞内的酶最适温度在37～50°C，植物细胞中的酶，最适温度较高，通常在50～60°C以上。温度对酶的作用有双重影响，一方面象一般化学反应一样，随着温度升高使活化分子数增加，酶催化的反应速度也升高，另一方面由于酶是蛋白质，随着温度升高，酶蛋白会逐渐变性而失活，因此最适温度是这二种影响互相作用的结果。

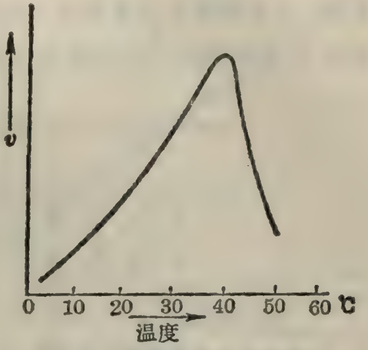


图 6-7 温度对酶反应的影响

最适温度是酶的特性之一，但不是固定不变的常数，常受到其他条件（如底物、作用时间、pH值等）的影响而改变。如最适温度随着作用时间的长短而改变的，一般反应时间长，酶的最适温度就低；反应时间短，则最适温度就高些。这是因为温度低时，酶本身较稳定，作用时间可长些；当温度高时，酶易变性失活，故作用时间不宜太久。测定最适温度在应用酶时有一定意义，如对酶的使用寿命和工艺时间缩短问题上都要根据具体情况选择最合适的温度条件。

(2) *温度对酶稳定性的影响* 酶对温度具有高度敏感性是酶最重要的特性之一。对于大多数酶来讲，当温度升高到30～40°C时，酶的活性已开始丧失，升高到50～60°C以上活性就迅速丧失。各种酶都有对热稳定的稳定温度，在这温度范围内，该酶是稳定的，不发生或极少发生失活。如3942蛋白酶的稳定温度在45°C以下，超过50°C活力就大大下降，在60°C处理10分钟活力全部丧失。酶的失活温度与蛋白质的变性温度很相近，说明酶的热失活是由于酶蛋白变性结果引起的。由于热对酶的破坏是逐渐进行的，故稳定温度与作用时间有关，如耐热性的细菌α-淀粉酶在75～90°C下处理，15分钟内保持稳定，时间延长或温度升高就不稳定。此外，酶对温度的稳定性还与溶液的pH值、酶浓度、底物和抑制剂的存在等有关。说明酶的稳定温度并不是不变的常数，当作用时间等条件改变，稳定温度也可改变。

有些酶的稳定温度可以因加入某些保护剂而提高，如假丝酵母脂肪酶、细菌α淀粉酶，当加入氯化钙后可提高稳定温度。酶法生产葡萄糖或饴糖时，在液化酶中添加少量氯化钙，此酶的稳定温度可高达93°C，在15～20分钟内不失活。

了解酶对温度的稳定性，可以知道在什么温度条件下进行工作，有助于对酶的研究。

2. pH对酶作用的影响

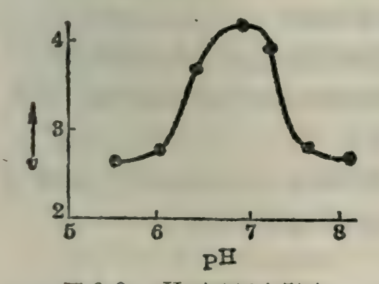


图 6-8 pH对酶活力影响

酶的活力和氢离子浓度关系很大，同一种酶在不同pH条件下测得的活力不同。酶常常限于某一pH值范围内才表现出最大活力，这种表现出酶最大活力时的pH值就是这酶的最适pH。当稍高或稍低于这最适pH时，活力就降低，图6-8表示唾液淀粉酶在不同pH的溶液中的活力。

各种酶在一定条件下，都有它一定的最适pH值，因此是酶的特性之一。大多数酶的最适pH在5～8之间，植物及微生物的酶，最适pH多在4.5～6.5左右，动物体内的酶其最适pH多在6.5～8.0左右，但也有例外，胃蛋白酶最适

pH1.5(底物为鸡蛋清)，肝中精氨酸酶的最适 pH 为 9.0。但酶的最适 pH 不是一个固定常数，它受到许多因素影响，如底物种类和浓度不同，缓冲液种类不同等都会影响最适 pH 的改变，因此最适 pH 只有在一定条件下才有意义。表 6-2 为几种常见酶的最适 pH。

表 6-2 一些酶的最适 pH 值

酶	底 物	最 适 pH
胃蛋白酶	鸡蛋清蛋白	1.5
胃蛋白酶	血红蛋白	2.2
尿酶	尿素，磷酸缓冲液	6.9
尿酶	尿素，柠檬酸缓冲液	6.5
唾液淀粉酶	淀粉	6.8
α-淀粉酶(猪胰)	淀粉	6.9
α-淀粉酶(麦芽)	淀粉	4.7～5.4
脂肪酶 (肝)	丁酸乙酯	8.3
脂肪酶(人胃)	低级酯	5.5～5.8
蔗糖酶(酵母)	蔗糖	4.6～5.0
过氧化氢酶(肝)	H_2O_2	6.8
胰蛋白酶	酪蛋白	8～9
牛胰 RNA 酶	RNA	7.8
蔗糖酶 (肠)	蔗糖	6.2

为什么在不同 pH 条件下，酶活力不同呢？除了由于过酸或过碱对酶本身稳定性有影响而引起变性外，pH 对酶活力影响的原因，主要是影响了酶分子的活力中心上有关基团的解离或底物的解离，这样就影响了酶与底物结合，从而影响酶的活力。一般认为最适 pH 时，酶分子上活性基团的解离状态最适合与底物结合，高于或低于最适 pH 时，就改变了活性基团的解离状态，使酶与底物的结合能力降低，于是活力也就相应地降低。各种酶往往只有在某一种解离状态时活力最大，如蔗糖酶、胆碱酯酶解离成二性离子时，具有最大活力，精氨酸酶呈负离子时活力最大。

pH 除了对酶反应速度有很大影响外，还由于酶是蛋白质，因此酶只有在一定的 pH 范围中才是稳定的，高于或低于这 pH 范围，酶就不稳定，易变性失活。各种酶的 pH 稳定性是不同的，如细菌液化淀粉酶在 30°C 下的 pH 稳定范围为 4.8～10.6(在 24 小时内)，唾液 α-淀粉酶为 4.8～11(24 小时内)，胃蛋白酶在较强的酸性条件下稳定，但在 pH 中性时就迅速失活。通过酶的 pH 稳定性测定，可以了解该酶稳定的 pH 范围。

研究最适 pH 和 pH 稳定性，在酶提取纯化工作和应用中，可以提供合适的 pH 条件和 pH 稳定范围。一般酶在最适 pH 附近是稳定的。由于 pH 对酶的破坏是逐渐进行的，因此 pH 稳定性与处理时间有关。

测定酶的 pH 稳定性时，先把酶放在一系列不同 pH 缓冲液中(在一定温度下)处理一定时间，然后在最适 pH 条件下测定初速度，即可得到该酶的 pH 稳定范围。

3. 酶浓度对酶作用的影响

在一定条件下，酶的浓度与反应速度成正比。因为酶催化反应时，酶先要与底物形成一中间物，当底物浓度大大超过酶浓度时，反应达到最大速度，这时增加酶浓度可增加反应速度，反应速度与酶浓度成正比关系，图 6-9 表示酶浓度与反应速度成直线关系，是酶活力

测定的依据，可作为标准曲线。

一般情况下，酶反应速度与酶浓度之间应成上述直线关系。但在实际工作中，常常会出现偏差，原因可能有：底物浓度太小，作用时间过长，酶制剂中有抑制剂存在，酶发生了变性，辅酶或激活剂的掉失等以及实验方法的限制所引起的。遇到这种偏差时，就应分析原因，找出解决的办法。

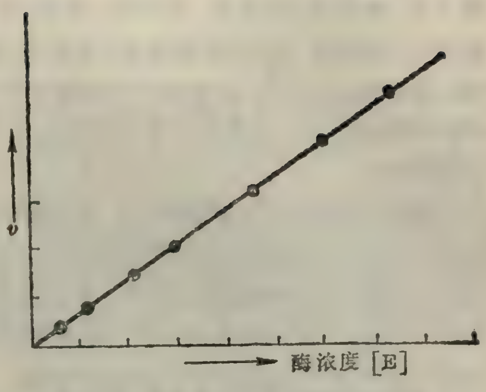


图 6-9 酶浓度与反应速度之间关系

4. 激活剂对酶作用的影响

凡是能提高酶活力的简单化合物都称为激活剂。但往往一种激活剂对某种酶来说具有提高活力的作用，而对另一种酶可能起抑制作用，如 Mg^{++} 对脱羧酶、烯醇酶具激活作用，而对肌球蛋白腺三磷酶来说具抑制降低活力的作用，而 Ca^{++} 对前二酶具抑制作用，对后者却是它的激活离子。甚至于对同一种酶，可因激活剂的浓度不同而作用不同，如酵母磷酸葡萄糖变位酶当没有 Mg^{++} 时，其活力仅 15%，当 Mg^{++} 浓度在 $1\times10^{-3}M$ 时活力大大升高，Mg^{++} 浓度达 $1\times10^{-2}M$ 时活力又下降，因此各种激活剂对酶作用是不同的。

酶的激活剂主要是一些简单的无机离子，如无机阳离子 Na^+、K^+、Ca^{++}、Mg^{++}、Cu^{++}、Zn^{++}、Co^{++}、Cr^{+++}、Fe^{++} 等和无机阴离子 Cl^-、Br^-、I^-、CN^-、NO_3^-、$PO_4^{\equiv}$ 等，都可作为激活剂而起作用。最常见的激活剂 Cl^- 是唾液淀粉酶最强的激活离子，当唾液经透析后此酶活力就大大降低，当加入少量 NaCl 溶液后，此酶活力又明显提高。RNA 酶需要 Mg^{++}、脱羧酶需要 Mg^{++}、Mn^{++}、Co^{++} 为激活剂。3942 蛋白酶用于皮革脱毛时，当加入少量 Cu^{++}、Mg^{++}、Co^{++} 等离子后，此酶的活力就有明显提高。这些离子可与酶分子上的氨基酸侧链基团结合，可能是酶活性部位的组成部分；它们的激活作用也可能是由于它与酶或底物或中间物结合所引起的；也可能作为辅酶或辅基的一个组成部分在起作用。一切生物在生命活动过程中常常需要极少量的无机金属离子，很可能就是作为某些酶的激活剂。另外一些小分子的有机物如抗坏血酸、半胱氨酸、谷胱甘肽、Na_2SO_3 等物对某些含巯基的酶具有激活作用，这是由于这些酶需要它分子中的巯基处于还原状态才具催化作用，如 3-磷酸甘油醛脱氢酶、木瓜蛋白酶在分离提取过程中其分子上的巯基较易氧化成二硫状态而活力降低，当加入上述任何还原剂后，能使二硫键还原成巯基从而提高酶活力，这些还原剂也属于激活剂。还有些酶的催化作用易受某些抑制剂的影响，凡能除去抑制剂的物质也可称为激活剂。

在酶提取或纯化过程中激活剂易丢失，故须注意补充，以激活酶的作用。由于酶的活力大小与激活剂有很大关系，目前正在对一些需要金属离子的酶进行研究，先用金属螯合剂如乙二胺四乙酸（EDTA）处理，去掉金属离子，使酶活性大大降低。然后再分别加入各种金属离子，研究它们对酶活力的关系，从中找出激活能力强的激活剂。

5. 抑制剂对酶作用的影响

(1) **抑制作用的一般概念** 由于酶蛋白活力中心的化学性质发生改变而引起酶活力下降或丧失称为抑制作用，造成抑制作用的物质称抑制剂（用 I 符号表示），抑制作用不同于失活作用，通常把由于酶蛋白变性而引起的酶活力丧失称失活作用。

酶的抑制剂有多种多样，如重金属离子（Ag^+、Hg^{++}、Cu^{++}）、一氧化碳、硫化氢、氰化物、

碘乙酸、砷化物、氰化物、生物碱、染料、有机磷农药以及麻醉剂等都是抑制剂。另外某些动物组织(如胰脏、肺)和某些植物(如大麦、燕麦、大豆、蚕豆、绿豆等)都能产生蛋白酶的抑制剂。蛔虫等肠道寄生虫也能产生抑制胃蛋白酶、胰蛋白酶活力的物质,从而使它在动物和人体内不致被消化,但这种物质没有抑制木瓜蛋白酶和无花果蛋白酶能力,因此可被这些酶消化而致死。

酶的抑制作用是很重要的。有机体往往只要有一种酶被抑制,就会使代谢不正常,以致表现病态,严重的甚至使机体死亡。对生物有剧毒的物质,大都是酶的抑制剂,如氰化物抑制细胞色素氧化酶的活性,敌百虫抑制酯酶,毒扁豆碱抑制胆碱酯酶。有不少抑制剂已用于杀虫、灭菌和临床治病。因此研究抑制剂和抑制作用,可以为医药上设计新药以及为农业上生产设计新农药提供理论依据。另外在研究酶的活力中心和代谢途径时,应用抑制剂是研究的基本方法。因此抑制剂的研究和应用,在理论研究上和实践中都有重要意义。

(2) 抑制作用的类型 抑制作用可从酶与底物形成中间物这概念来认识,抑制剂之所以能抑制酶的活性,就是由于它破坏或改变了酶与底物结合的活力中心,阻碍了中间物的生成或分解,因此影响了酶的活性。根据抑制剂与酶作用的特点,可将抑制作用分为二种类型:

1) 不可逆抑制作用:这类抑制剂与酶的某些基团以共价键方式结合,一经结合后就很难自发分解,不能用透析或超滤等物理方法解除抑制而恢复酶活力。必须通过其他化学反应,才能将抑制剂从酶分子上移去。它的抑制作用随着抑制剂浓度的增加而逐渐增加,当抑制剂的量大到足以和所有的酶结合,则酶的活性就完全抑制。例如二异丙基氟磷酸等有机磷化合物是胆碱酯酶的不可逆抑制剂,碘乙酸和含汞含砷有机物是含巯基活性基团的巯基酶的不可逆抑制剂。

2) 可逆抑制作用:这类抑制剂与酶的结合是可逆的,结合后可以用透析等方法除去抑制剂,减轻或解除抑制,使酶全部恢复活性。这种结合往往是非共价键的结合。

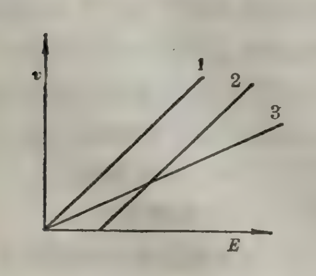


图 6-10 可逆抑制和不可逆抑制作用的区别

为区别可逆抑制和不可逆抑制作用,可以用动力学方法。在一反应系统中,加入一定量的抑制剂,然后在此反应混合液中加入一系列不同量的酶,测定反应初速度,以 v 对 E 作图,可以判断此抑制剂是属于可逆还是不可逆的抑制剂(图 6-10)。① 当反应系统中不加任何抑制剂时,v 与 E 成直线关系(曲线 1);② 当反应系统中加入一定量的不可逆抑制剂时,这些抑制剂就要和一定量的酶作用,使一定量的酶钝化,只有当加入的酶量大于不可逆抑制剂量时,酶才表现出活力,因此得到不通过原点的直线,但斜率和曲线 1 相同(曲线 2);③ 当反应系统中加入一定量的可逆抑制剂时,v 与 E 成直线关系,并通过原点,但其斜率低于曲线 1(见曲线 3)。

在可逆抑制作用中,抑制剂和底物与酶的相互关系主要有二种情况:

竞争性抑制作用:酶不能同时既和底物又和抑制剂结合形成 ESI 复合物,在抑制剂和底物之间发生了竞争性地与酶分子相结合的作用,从而引起抑制作用,这类抑制剂称竞争性抑制剂。正常情况下酶和底物作用如下:

$$E+S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E+P$$

当有抑制剂存在时，酶与抑制剂可形成 EI 复合物：

$$E+I \rightleftharpoons EI$$

由于降低了 E 浓度，使反应速度下降。这类抑制剂的结构往往与此酶所作用的底物结构很相似，和底物一样地也能与此酶的活性中心的结合基团结合，影响了此酶的活性。这类抑制剂的效应在于使 K_m 值增加，而且随着抑制剂浓度增加而无限增加。其抑制程度主要决定于抑制剂和底物各自的相对浓度以及亲和力大小。当增加抑制剂浓度，则抑制作用加强；增加底物浓度，则有利于酶和底物结合，可以减轻抑制作用，因此这类抑制作用可以用增加底物浓度来减轻或解除。如丙二酸和戊二酸的结构与琥珀酸（即丁二酸）很相似，都是琥珀酸脱氢酶的竞争性抑制剂：

CH_2COOH | CH_2COOH 琥珀酸　　$CH_2(COOH)_2$ 丙二酸　　CH_2COOH | CH_2CH_2COOH 戊二酸

在这酶反应中加入丙二酸后，就竞争性地抑制了此酶的活力，当反应中增加琥珀酸浓度后，就可把与丙二酸结合的酶取代出来，解除或减轻抑制作用，从而保证了此酶的正常作用。

磺胺药物如磺胺嘧啶 SD、磺胺噻唑 ST、磺胺甲氧嗪 SMP、磺胺二甲基嘧啶 SM_2 等都属于竞争性抑制剂，是一类应用很广的化学治疗剂，对很多致病菌有抑制生长和繁殖的作用。

$H_2N-C_6H_4-COOH$
对氨基苯甲酸
（简写 PABA）

$H_2N-C_6H_4-SO_2NHR$
磺胺药类通式

R= 噻唑基 ST；嘧啶基 SD；4,6-二甲基嘧啶基（CH_3, CH_3）SM_2；6-甲氧基哒嗪基（$-OCH_3$）SMP

从结构上看，磺胺药和一种叫做叶酸的维生素的组成成分——对氨基苯甲酸（符号 PABA）十分相似，因此它能对以 PABA 为底物的二氢叶酸合成酶起竞争性的抑制作用，影响菌体内二氢叶酸的合成，从而使细菌生长抑制，不能繁殖，达到治病目的。磺胺药在医药上属于抗代谢药物，根据代谢类似物的抑制原理来设计的。

竞争性抑制作用很常见，这类抑制剂与酶结合的作用点，可能就是底物与酶活性中心相结合的基团，因此抑制剂和底物之间表现出竞争性关系。也可能是因为酶与底物（或抑制剂）结合后，酶分子的空间结构发生了变化，不利于再和抑制剂（或底物）结合。

非竞争性抑制作用：这类抑制剂和酶结合后并不妨碍酶与底物的结合，可见结合的地位不同，这样就可形成酶、抑制剂、底物三者的复合物 EIS（$E+S+I \longrightarrow EIS$），但这复合物却不能进一步转变为产物，因此，酶的活力就大大受到影响。显然底物与抑制剂之间，没有竞争性关系，它所引起的抑制作用，不能用提高底物浓度来解除。有些重金属离子 Ag^+、Cu^{++}、

Pb^{++}、Hg^{++} 等的抑制作用属于此类。

这类抑制剂或是与酶活力中心催化基团作用，或是和维持酶分子构象的必需的基团作用，因而对底物和酶的结合没有竞争性关系，它的效应在于降低最大速度而不改变 K_m 值。

(3) 一些重要的抑制剂

1) 毒害“金属酶”的抑制剂：氰化物、硫化物和一氧化碳等常能和金属形成较为稳定的络合物，因而使需要金属的酶的活性受到抑制。如氰化物能抑制含铜、铁、锌和其他金属的酶类，其中对细胞色素氧化酶的抑制作用最突出。一氧化碳则能抑制含铜或铁的酶类。

2) 巯基酶的抑制剂：有很多酶分子中的巯基是表现其催化功能所必需的基团，当巯基发生改变，酶活力就丧失，这类酶称为巯基酶，例如脲酶、3-磷酸甘油醛脱氢酶、蛋白酶、α-淀粉酶等均属之。凡是能改变巯基而引起巯基酶活力抑制的化合物称巯基抑制剂，一些氧化剂如过氧化氢、碘化物、高铁氰化钾和胱氨酸，一些含汞或含砷的金属、类金属化合物如砒霜、对氯汞苯甲酸、路易士毒气以及碘乙酸、氮芥等烃化剂都可与巯基结合使巯基酶活性抑制。巯基酶的抑制剂属于不可逆抑制剂。

这类对巯基酶引起的抑制作用，可以用加入过量的含巯基化合物而解除，如还原状谷胱甘肽、半胱氨酸、二巯基丙醇、二巯基丙磺酸钠等，这些化合物通常称为巯基酶的保护剂。目前临床上对于汞中毒、砷中毒或被某些毒气中毒的病人，可以用二巯基丙磺酸钠、二巯基丙醇、半胱氨酸来治疗，起解毒作用。主要作用是它们分子中的巯基和酶蛋白上的巯基都竞争地与抑制剂结合，如二巯基丙磺酸钠与含汞或砷等有机物抑制剂有较强亲和力，能与之结合成稳定的化合物而排出体外，并使巯基酶释放出来，达到解除抑制，恢复活力的作用，反应过程简述如下：

$$\underset{\text{巯基酶}}{2\,E\cdot SH} + \underset{\text{砷化物}}{R-As=O} \longrightarrow (E-S)_2As-R + H_2O$$

$$(E-S)_2As-R + \underset{\text{二巯基丙磺酸钠}}{CH_2(SH)-CH(SH)-CH_2SO_3Na} \longrightarrow CH_2(S)-CH(S)(\text{-As-R}) -CH_2SO_3Na + 2\,E\cdot SH$$

3) 重金属盐毒物：重金属盐的 Ag^+、Cu^{++}、Hg^{++}、Pb^{++}、Fe^{++}、Fe^{+++} 等在高浓度时能作为蛋白质沉淀剂而使酶变性失活；但在低浓度时对某些酶的活性具有抑制作用，如 Ag^+ 浓度为 $5\times10^{-7}\,M$ 时对蔗糖酶有抑制作用，Hg^{++}、Cu^{++}、Ag^+ 浓度为 $4\times10^{-4}\,M$ 时对栖土曲霉蛋白酶有显著的抑制作用。这些重金属离子的抑制机制比较复杂，能与巯基作用，或与羧基作用，也能与咪唑基作用。

由于重金属离子对某些酶有强烈的抑制作用，因此在生产或使用酶制剂，或测定酶活力时，都应注意避免酶与这些有害的金属离子接触，当酶受到金属离子抑制后，可使用金属螯合剂如 EDTA、半胱氨酸或焦磷酸盐等螯合掉有害的重金属离子，使酶活力又恢复。

4) 有机磷农药：有机磷农药具有如下通式：

$$\begin{matrix} R_1-O \\ R_2-O \end{matrix}\!\!>P\!\!<\!\begin{matrix} O \\ X \end{matrix} \quad \text{或} \quad \begin{matrix} R_1-O \\ R_2 \end{matrix}\!\!>P\!\!<\!\begin{matrix} O \\ X \end{matrix}$$

$$\begin{matrix} CH_3O \\ CH_3O \end{matrix}\!\!>\!P\!\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow CHOHCCl_3 \end{matrix}$$

敌百虫

$$\begin{matrix} CH_3O \\ CH_3O \end{matrix}\!\!>\!P\!\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow OCH=CCl_2 \end{matrix}$$

敌敌畏

$$\begin{matrix} (CH_3)_2CHO \\ (CH_3)_2CHO \end{matrix}\!\!>\!P\!\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow F \end{matrix}$$

DFP

常见的有机磷化合物为二异丙基氟磷酸(DFP)，农药如敌百虫、敌敌畏、乐果等，它们能高度专一性地抑制酯酶类的活力，其中对于神经传导有密切关系的乙酰胆碱酯酶的抑制作用特别强烈，由于它们能与此酶蛋白分子上的丝氨酸残基侧链的羟基活性基团结合，破坏活力中心，故是一类高效的抑制剂。胆碱酯酶催化乙酰胆碱水解为胆碱和乙酸：

$$(CH_3)_3N^+CH_2CH_2OC\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow CH_3 \end{matrix} \longrightarrow (CH_3)_3N^+CH_2CH_2OH + CH_3COOH$$

乙酰胆碱　　　　胆碱　　　　乙酸

乙酰胆碱是一种神经系统传导冲动刺激的化学介质，昆虫和脊椎动物神经中存在。正常机体在神经兴奋时，神经末梢释放出乙酰胆碱，进行刺激传导，然后被体内的胆碱酯酶分解而失去作用。由于胆碱酯酶的作用，从而调节神经之间的刺激传导。当有机磷农药进入动物或人体后，便迅速与体内胆碱酯酶结合成不易水解的磷酰化胆碱酯酶，抑制此酶的活性，使乙酰胆碱在体内大量累积，一些以乙酰胆碱为传导介质的神经处于过度兴奋状态，引起功能失调而导致中毒，如昆虫就失去知觉而死亡。因此这些抑制剂是中枢神经系统的剧毒药物，不仅对昆虫而且对人畜也有剧毒作用。由于这些农药对植物基本无毒害，故可用作杀虫剂。

对有机磷农药抑制作用的研究，知道一些肟类 $\begin{matrix} R \\ R \end{matrix}\!\!>\!C=NOH$ 或羟肟酸 $R-\overset{\overset{O}{\|}}{C}-NHOH$ 化合物能将有机磷化合物从酶分子上取代下来，使已被有机磷农药抑制的胆碱酯酶有显著的复能作用，即活力恢复作用。这些化合物称为有机磷农药解毒剂或胆碱酯酶复能剂，例如解磷定（碘化醛肟吡啶）和氯磷定（氯化醛肟吡啶）都是当前抢救有机磷农药中毒病人较好的解毒药物。它们能促使已与有机磷农药结合且活力被抑制的磷酰化胆碱酯酶水解，使胆碱酯酶重新释放出来，解除抑制并恢复活力，而本身与有机磷农药结合成无毒的化合物排出体外，达到解毒作用。反应过程简述如下：

$$E\cdot H + \begin{matrix} RO \\ RO \end{matrix}\!\!>\!P\!\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow X \end{matrix} \longrightarrow \begin{matrix} RO \\ RO \end{matrix}\!\!>\!P\!\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow O\cdot E \end{matrix} + HX$$

胆碱酯酶　　农 药　　磷酰化胆碱酯酶

$$\downarrow + \text{(N-CH}_3^+\text{-吡啶-2-)}CH=NOH\cdot I^- \quad \text{解磷定}$$

$$\begin{matrix} RO \\ RO \end{matrix}\!\!>\!P\!\begin{matrix} \nearrow O \\ \searrow O-N=\overset{H}{C}-\text{(N-CH}_3^+\text{-吡啶-2-基)}\,I^- \end{matrix} + E\cdot H$$

无毒性的磷酰化解磷定

临床测定血中胆碱酯酶的活力可以诊断有机磷农药中毒的程度，当重度中毒时，此酶的活力可降到正常的30%以下。

5）抗代谢物：许多和酶的天然底物——代谢物在结构上类似的化合物，往往具有抗菌或抗癌作用，上述的磺胺药即属之。5-氟尿嘧啶是种抗癌药，结构与尿嘧啶十分相似，能抑制体内胸腺嘧啶合成酶的活性，阻碍核酸的成分——胸腺嘧啶的合成。当这些与代谢物结构类似的药物存在时，代谢就会发生障碍，导致病菌或癌细胞生长抑制，这些化合物又称为抗代谢物。

上述这些因素对酶作用的影响，是我们进行酶活力测定，研究和应用酶时都必须考虑到的。这些因素不是各自孤立的，而是互相影响处于统一体中，是同时在发生作用的。但一定条件下，诸因素中有的成为影响酶活力的主要矛盾。如温度高时酶要变性，酶量太少要影响反应速度。只要我们对具体情况作具体分析，坚持实践第一的观点，从实际出发，是能够控制和掌握这些因素的。

第五节　酶的提取和纯化

一、酶提取和纯化的一般概念

生物细胞产生的酶有二类：一类由细胞内产生后分泌到细胞外进行作用的酶，称为细胞外酶。这类酶大都是水解酶，如酶法生产葡萄糖所用的二种淀粉酶，就是由枯草杆菌和根霉发酵过程中分泌出来的。多酶片中胃蛋白酶、胰酶就是由猪的胃粘膜细胞和胰脏细胞所分泌的。这类酶一般含量较高，容易得到。另一类酶在细胞内产生后并不分泌到细胞外，而在细胞内起催化作用，称为细胞内酶，如柠檬酸、肌苷酸、味精的发酵生产所进行的一系列化学反应，就是在多种酶催化下在细胞内进行的，这类酶在细胞内往往与细胞结构结合，有一定的分布区域，催化的反应具有一定顺序性，使许多反应能有条不紊地进行。如氧化还原酶在线粒体上，蛋白质合成的酶存在于微粒体上。

酶的来源不外乎动物、植物和微生物。生物细胞内产生的总的酶量是很高的，但每一种酶的含量却很低，如胰脏中起消化作用的水解酶种类虽很多，但各种酶的含量却差别很大，下表为100克湿胰脏组织中所含的某几种水解酶的克数：

酶　名　称	胰蛋白酶	胰凝乳蛋白酶	羧肽酶	RNA 酶	DNA 酶	淀粉酶	脂　酶
克数/100克湿胰脏	0.65	0.65	0.26	0.03	0.0005	0.65	0.3

因此，在提取某一酶时，首先应当根据需要，选择含此酶最丰富的材料，从上表中看出胰脏是提取胰蛋白酶、胰凝乳蛋白酶、淀粉酶和脂酶的好材料。由于从动物内脏或植物果实中提取酶制剂受到原料限制，如不能综合利用，成本又很大。目前工业上大多采用培养微生物的方法来获得大量的酶制剂。从微生物来生产酶制剂的优点很多，既不受气候地理条件限制，而且动植物体内的酶大都可以在微生物中找到，微生物繁殖快，产酶量又丰富，还可以通

过选育菌种来提高酶的产量，用廉价原料可大量生产。

由于在生物细胞组织中，除了我们所需要的某一种酶之外，往往还有许多其他酶和一般蛋白质以及其他杂质，因此为制取某酶制剂时，必须经过分离和纯化的手续。

酶是蛋白质，故蛋白质分离纯化的方法也是酶常用的方法，蛋白质很易变性，所以在酶提纯过程中，应避免用强酸强碱，保持在较低的温度下操作。

酶是具有催化活性的蛋白质，通过测定催化活性，可以比较容易地跟踪酶在分离提纯过程中的去向。酶的催化活性又可以作为选择分离纯化方法和操作条件的指标，在整个酶的分离纯化过程的每一步骤，始终要测定酶的总活力和比活力，这样才能知道经过某一步骤回收到多少酶、纯度提高了多少，从而决定这一步骤的取舍。

酶的分离纯化一般包括三个基本步骤：即抽提，纯化，结晶或制剂。首先将所需的酶从原料中引入溶液，此时不可避免地夹带着一些杂质，然而再将此酶从溶液中选择性地分离出来，或者从此酶液中选择性地除去杂质，最后制成纯化的酶制剂。

二、酶的抽提

1. 破细胞

对细胞外酶只要用水或缓冲液浸泡，滤去不溶物，就可得到粗抽提液。对于细胞内酶，则必须先设法使细胞破裂后才能释放出来。为了破碎细胞，动植物组织一般可用绞肉机或高速组织捣碎器，或者加石英砂研磨，然后将材料做成丙酮粉或进行冰冻融解。当少量材料时，也可用玻璃匀浆器。对微生物材料，通常采用自溶法，就是将浓的菌体悬液加入少量甲苯或氯仿或乙酸乙酯，在适宜的 pH 和温度下保温一定时间，使菌体自溶液化，酵母细胞壁厚，常用此法。对细菌，用加砂或加氧化铝研磨和超声波振荡是常用的有效方法，此外还有丙酮粉法、冰冻融解法、溶菌酶溶解法以及加研磨剂高速振荡法等。

丙酮粉法是将新鲜材料粉碎后，在 0°C 以下的条件下加入 5～10 倍量的丙酮，迅速搅拌均匀后经过滤、干燥、磨碎后即得丙酮干粉，这是一种有效的破细胞方法，而且具有能去除脂类物质、免除脂类干扰和容易保存等优点。

2. 抽提

由于大多数酶属于清蛋白或球蛋白类，因此一般都可以用稀盐、稀酸或稀碱的水溶液抽提出来。抽提液和抽提条件的选择取决于酶的溶解度、稳定性等。

抽提液的 pH 一般以 4～6 为好，为了达到好的抽提效果，选择的 pH 应该在酶的 pH 稳定范围内。同时抽提的 pH 最好能远离等电点，即酸性酶蛋白用碱性溶液抽提，碱性酶蛋白用酸性溶液抽提。关于盐的选择，由于大多数蛋白质在低浓度的盐溶液中较易溶解，故抽提时一般用等渗的盐溶液，最常用的有 0.02～0.05 *M* 磷酸缓冲液、0.15 *M* 氯化钠、焦磷酸钠缓冲液和柠檬酸钠缓冲液等。抽提温度通常都控制在 0～4°C。抽提液用量通常是原料的 1～5 倍。有时为使抽提效果好些，要反复抽提。

3. 浓缩

由于抽提液或发酵液中酶浓度往往很低，必须浓缩。常用的浓缩方法有：盐或冷乙醇沉淀后再溶解，薄膜浓缩，冰冻浓缩，聚乙二醇浓缩，胶过滤浓缩以及超过滤浓缩法等。

三、酶的纯化和纯化方法

粗抽提液中还含有大量杂质，因此要进一步纯化去掉杂质，才能得到酶的精制品。但在纯化过程中，一方面是使酶的纯度提高，另一方面也使酶的总量有所损失。因此在具体工作中，应当从实际出发，如果不需要纯度很高的酶，就不必反复纯化，以免损耗太多、成本高。例如皮革脱毛用的蛋白酶就不必太纯，而在医疗上用的针剂注射液、科学研究用的酶制品，则要求一定的纯度。

抽提液中除了含有所需要的酶以外，还杂有其他小分子和大分子物质。小分子物质在纯化过程中会自然地除去，大分子物质包括核酸、粘多糖和杂蛋白质等往往会干扰纯化，如细菌的抽提液中常含有大量核酸，最好预先除去。核酸一般可用鱼精蛋白或氯化锰($MnCl_2$)使之沉淀去除，必要时还可用核酸酶处理。粘多糖可用醋酸铅或丙酮处理，也可用酶将它去掉，这些杂质去掉后，剩下来的就是杂蛋白。因此纯化的主要工作就是要将酶从杂蛋白中分离出来。

分离纯化的方法很多，根据酶和杂蛋白在一定条件下溶解度的不同来进行酶纯化的方法，常用的有盐析法、有机溶剂沉淀法、等电点沉淀法。另外还有吸附分离法以及近年来迅速发展的胶过滤法、离子交换法和亲和层析法等。

盐析法是根据酶和杂蛋白在高浓度的盐溶液中溶解度的不同来达到纯化目的的一种常用方法。最常用的盐是硫酸铵，其他还有硫酸镁、氯化钠、硫酸钠等。盐析法的优点是简便安全，大多数酶在高浓度盐溶液中相当稳定，重复性好。但分辨力低，纯度提高不显著，还要进行脱盐。

有机溶剂沉淀法也是一种常用有效的酶纯化方法。分离纯化酶时，最重要的是严格控制温度，操作须在0°C以下进行。所用溶剂的浓度根据酶的性质而定。常用的浓度(指最后浓度)一般在30～60%。溶剂浓度高时，易使酶失活，应少量分几次加入，加入时速度要慢，以免产生大量的热而使酶变性失活。

蛋白质在等电点时溶解度最小，但仍有一定的溶解度，沉淀不完全，因此很少单独使用等电点法进行酶的纯化，多数情况是在纯化的前面步骤中用来去除大量杂蛋白，使酶液澄清。调节pH一般可用醋酸钠、氨水或缓冲液。

吸附分离法也是应用较早的一种简便方法，常用的吸附剂有白土、氧化铝和磷酸钙凝胶。白土是以硅酸铝为主要成分的一类具强吸附力的粘土，如皂土、高岭土、活性白土等。磷酸钙凝胶可以从氯化钙和磷酸钠直接制备。上述这些吸附剂都是在弱酸或中性以及低盐浓度时吸附力较好，近年来较多应用羟基磷灰石作为吸附剂。进行吸附工作时，先在酶液中加入适当的吸附剂，搅拌静止后，酶被吸附并与吸附剂一起沉淀下来，与杂蛋白分开，过滤后，吸附了酶的吸附剂可直接烘干制成酶制剂。也可用适当的溶剂如pH7.0的磷酸缓冲液把此酶从吸附剂上洗下来，然后再进一步纯化。用吸附剂也可去掉酶液中其他杂质和色素。

从吸附法发展起来的亲和层析法是根据酶的功能所建立起来的一种新型纯化方法，具有较高分辨力，目前正在迅速发展。

近十多年发展起来的胶过滤法，在酶的纯化工作中应用也日益广泛。

根据蛋白质带电性质进行分离的离子交换法和电泳法，前者常用于大体积制备，应用很广，分辨力也高。电泳法主要作为分析鉴定的工具或用于少量分离。

选择性变性法在酶的纯化工作中是常用而简便有效的方法。主要是根据酶和杂蛋白在某些条件下稳定性的差别，使某些杂蛋白变性来达到除去大量杂蛋白的目的。常用的有选择性热变性，酸碱变性，表面变性等法。有些酶相当耐热，如胰蛋白酶、RNA 酶加热到 90°C 还不被破坏，因此在一定条件下将酶液迅速升温到一定温度 (50～70°C)，经一定时间后 (5～15 分钟) 迅速冷却，可使大多数杂蛋白变性沉淀，这样酶的纯度就可大大提高。总之这类选择性变性方法能以很小的代价去除大量杂蛋白，只要掌握酶的稳定性条件，应用得当，纯度可大大提高。

为了达到比较理想的纯化结果，往往需要几种方法配合使用。至于选择哪些方法以及效果如何，主要根据酶本身的性质来决定。

四、纯度和产量

提纯的目的，不仅在于得到一定量的酶，而且要求得到不含或尽量少含其他杂蛋白的酶制品。在纯化过程中，除了要测定一定体积或一定重量的酶制剂中含有多少活力单位外，还需要测定酶制剂的纯度。酶的纯度用比活力表示，比活力即每毫克蛋白(或每毫克蛋白氮)所含的酶活力单位数。

比活力(纯度)＝活力单位数/毫克蛋白(氮)＝总活力单位数/总蛋白(氮)

怎样来理解比活力？譬如今有一酶的粗提取液，除了该酶分子外，往往还含有许多其他杂蛋白，经四个纯化步骤，分别在每一步骤中取样得到下列甲、乙、丙、丁四种样品，测定活力和蛋白，计算出总活力、总蛋白和比活力。

	甲	乙	丙	丁
总活力	6	4	3	2
总蛋白	20	10	5	2
比活力	6/20	4/10	3/5	2/2

可看出经过四个纯化步骤后，总的蛋白大大减少，其中也包括损失了一些酶，因此总活力也减少。但因杂蛋白去得多，所需的酶相应去掉得少些，故酶制品的纯度就提高了。如果纯化过程中只求其总活力，是无法了解其纯度是否提高了。一定要了解其总活力与总蛋白的比，才能看出其纯化程度在一步步提高。总之，在提纯的过程中，总活力在减少，总蛋白量也在减少，但比活力却在增高。比活力愈高，表示酶纯度愈高。

此外在酶的纯化工作中还要计算二个具有实际意义的项目，即纯化倍数和产量 % (即回收率)。

$$纯化倍数=\frac{每次比活力}{第一次比活力}$$

$$产量\ \%=\frac{每次总活力}{第一次总活力}\times 100$$

表 6-3 数据表示从粘质赛氏杆菌中提取纯化天冬酰胺酶的过程，经过七步，分别测得总活力单位、总蛋白量的数据，从这些数据进一步计算出比活力、产量 % 和纯化倍数。

表 6-3 从粘质赛氏菌的粗抽提液提纯天冬酰胺酶的过程

纯化步骤		总蛋白(g)	总活力单位	比活力 活力单位/mg蛋白	纯化倍数	产量%(回收率)
1	粗抽提液	30	21000	0.7	1	100
2	氯化锰去核酸，热变性(55°C，5分钟)去杂蛋白	7.64	15017	2.0	2.8	72
3	KOH 冰冻融解	5.58	14872	2.7	3.8	71
4	DEAE-纤维素吸附层析	0.113	5025	44.5	63.5	24
5	硫酸铵盐析	0.048	3467	71.7	102.0	17
6	羟基磷灰石吸附	0.016	3133	200.0	286.0	15
7	聚丙烯酰胺凝胶电泳	0.012	3100	255.0	365.0	15

上述例子说明纯化过程是很复杂的，须应用多种方法才能去掉杂蛋白，得到纯度较高的酶。随着纯化的进行，总蛋白逐步减少，总活力也减少，但相比起来杂蛋白去掉得多，减少至1/2500倍，而酶去掉得少，减少至1/7，因此纯度就一步步提高，第一次比活力为0.7，最后为255，纯化了365倍，但酶在纯化时也损失不少，原来总活力为21000，最后为3100，产量只有15%。

酶的纯度鉴定目前较多的是应用盘状电泳和等电聚焦电泳法，具有分辨力高和简便的优点。

五、固　相　酶

固相酶是六十年代发展起来的一种新的应用技术。通常酶促反应是将酶溶于溶液中进行的，由于水溶性酶稳定性差，反应后即使还有活力，但无法回收，耗酶量大，也不能连续操作，又因酶制品带入的杂质，影响产品质量。固相酶是将分离纯化得到的水溶性酶，用物理或化学方法处理，使酶与一惰性载体连接起来或将酶包起来做成一种不溶于水的酶。这样的酶在固相状态下作用于底物，故又称水不溶酶或固定化酶。

固相酶不仅仍具有酶催化特性，而且对酸碱、温度等的稳定性大大增加，并易与反应物分离，可反复多次使用，提高酶的使用率。如将固相酶装入柱中，可使反应连续化、自动化，简化工艺。由于能充分洗涤，去掉一切可溶性杂质，使产物质量大大提高。因此它的研究和应用是近年来一项有意义的重要革新。

固相酶的制备方法大致可分四类：① 吸附法，即酶被吸附于不溶性载体或离子交换剂上；② 载体偶联法，即酶通过化学反应以共价键偶联于适当的载体上，如纤维素、葡聚糖凝胶上，办法是先在载体上面接上一些可与酶蛋白起反应的基团，然后再与酶结合起来，此法已广泛被采用；③ 交联法，即采用双功能基团的试剂，使酶分子之间交联聚合成“网状”结构；④ 包埋法，将酶包埋在凝胶格子中或半透膜微型胶囊中。图 6-11 为这些方法示意。

固相酶在我国科研、生产和临床上正广泛使用之中。如酶法水解 RNA 制取 5′-核苷

酸，有关部门采用载体偶联法，将5′-磷酸二酯酶偶联于葡聚糖凝胶或甘蔗渣纤维上做成固相酶，来水解RNA制备5′-核苷酸，比液相酶提高效率15倍，可反复多次使用达50次之久，产品质量又有了提高。目前固相氨基酰化酶、青霉素酰胺酶、天冬氨酸酶、葡萄糖淀粉酶和葡萄糖异构酶等都已在生产上应用。固相酶还可用于临床化验、工业分析和治疗疾病等。

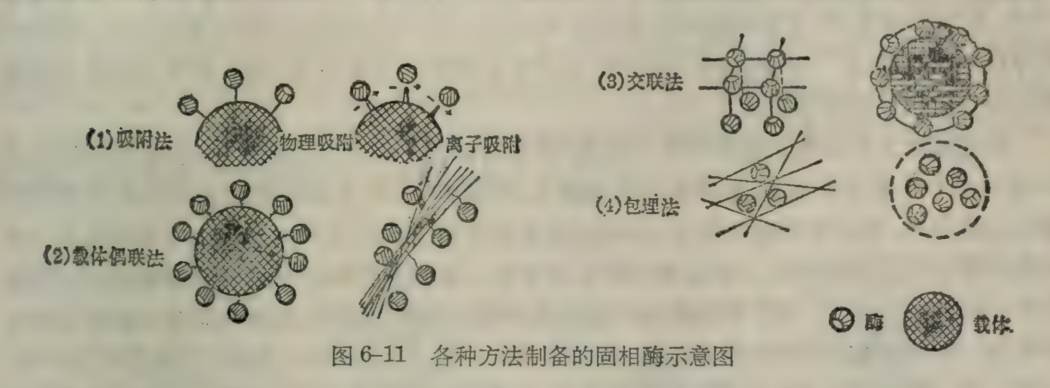


图6-11　各种方法制备的固相酶示意图

第六节　酶的结构与功能

酶的高效率和高度专一性的催化特性是与酶蛋白本身的结构直接有关的。酶进行催化作用时，并不是以整个酶分子参加，而是以酶分子的活力中心参加反应的。

一、酶的活力中心

酶的活力中心(部位)是指酶分子上直接参与反应的氨基酸残基的侧链基团，根据一定的空间结构组成的活性结构。通常又将活力中心的基团分为催化基团和结合基团。前者决定酶的催化能力，一般只由2～3个氨基酸残基组成。后者决定酶与哪些底物结合，是决定专一性的部位，结合基团的氨基酸残基数却因不同的酶而不同，可能是一个，也可能是几个。活力中心的氨基酸残基在一级结构上可以相距甚远，但在空间结构上却十分邻近。这几个氨基酸残基可能位于同一条肽链的不同部位，也可能位于不同肽链上，但从立体结构上来说，构成活力中心的氨基酸残基通过肽链盘曲折迭而处于相邻的位置上。当酶蛋白变性时，它的立体结构破坏，肽链伸展，活力中心破坏，酶就失去活力。例如牛胰核糖核酸酶，是由124个氨基酸组成的单一肽链，链内有4处由二硫键相连而使肽链形成多次折绕的形状，用各种方法证明12位和119位的组氨酸以及41位的赖氨酸在空间结构上很接近，由于这三个氨基酸残基的侧链基团互相接近而形成了此酶的活力中

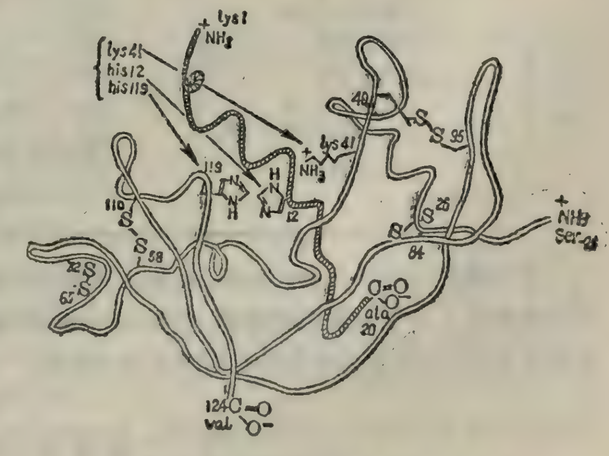


图6-12　牛胰核糖核酸酶S的空间结构

心，当破坏二硫键后，肽链分子伸展成一条不规则的线状多肽链，活力中心破坏，活力也就相应丧失，如果进行温和的重氧化，可恢复成天然状态有活性的酶。图 6-12 为核糖核酸酶 S(RNaseS)的空间结构。所谓核糖核酸酶 S 是指该酶经枯草杆菌蛋白酶作用后，切断 20 位丙氨酸与 21 位丝氨酸之间的肽键，由于活力中心没有破坏，仍保存全部酶活力。在酸性条件下，可以把这由 20 个氨基酸残基组成的 S 肽和由 104 个残基组成的 S 蛋白分开，分开后的碎片都没有活力。在中性 pH 条件下，这二个肽片按 1:1 混合后，则互相又可通过次级键重新组合而恢复全部活力。

研究酶活力中心的方法可以用切除法、化学修改法来研究活力碎片，如链球菌核酸酶从 N-端切去 6 个氨基酸残基、牛胰核糖核酸酶从 N-端切去 12 个氨基酸残基以及 α-淀粉酶的氨基乙酰化后，都不影响酶的活力，说明这些部位与活力中心无关。也可用抑制剂或专一性的氨基酸试剂进行酶标记，然后测定酶活力变化，来判断所标记的氨基酸侧链是否属于活力中心的基团。如 N-对甲苯磺酰苯丙氨基氯甲酮（简称 TPCK）是胰凝乳蛋白酶的竞争性抑制剂，在中性条件下能和该酶作用，标记在 His_{57} 上，引起酶活力丧失；又如 DFP 在一定条件下能与酶分子中 Ser 残基上的羟基结合，是酯酶和某些蛋白酶的抑制剂，在接近中性的条件下，DFP 能和胰凝乳蛋白酶作用，并标记在该酶分子的 Ser_{195} 残基上，使此酶的活性完全丧失。这两例子说明由 TPCK 标记的 His_{57} 和由 DFP 标记的 Ser_{195} 是共同构成胰凝乳蛋白酶活力中心的部位。又如碘乙酸易与含 —SH 的化合物作用，凡是可以被碘乙酸抑制的酶，它们的活力中心必然与含—SH 的 Cys 有关，如 3-磷酸甘油醛脱氢酶的活力可以被碘乙酸抑制；木瓜蛋白酶分子的 212 个氨基酸组成中有一个半胱氨酸残基，用碘乙酸处理后，酶的活力就丧失，说明这二个酶的活力中心与 —SH 有关。应用抑制剂的方法，证明半胱氨酸、组氨酸、丝氨酸等在酶的活力中心中占重要地位。表 6-4 为某些酶的活力中心氨基酸残基。

表 6-4　某些酶的活力中心氨基酸残基

酶	氨基酸残基数	活力中心残基
牛胰核糖核酸酶 A	124	His_{12}, His_{119}, Lys_{41}
溶菌酶	129	Asp_{52}, Glu_{35}
牛胰凝乳蛋白酶	245	His_{57}, Asp_{102}, Ser_{195}
牛胰蛋白酶	238	His_{46}, Asp_{90}, Ser_{183}
木瓜蛋白酶	212	Cys_{25}, His_{159}
弹性蛋白酶	240	His_{45}, Asp_{93}, Ser_{188}
枯草杆菌蛋白酶	275	His_{64}, Ser_{221}
碳酸酐酶	258	His_{93}—Zn—His_{95} ↓ His_{117}

至于酶活力中心以外的部分，对维持酶的空间结构具有很大作用。酶活力中心的研究，是近代酶学上一个重要理论课题，了解活力中心的全部结构后，就有可能模拟酶的活力中心应用于生产，人工合成结构简单而又具活力的酶。

二、“诱导契合”理论

上面已介绍酶的活力中心是由结合基团和催化基团按照一定的立体结构组成的活性

结构。但是,酶的活力不仅取决于这两类基团的存在,同时也依赖于它们是否有正确的相对位置和适宜的构象。据研究,在酶与底物结合过程中,酶的活力中心本身的构象要发生一定的变化,使酶与底物能形成较稳定的络合物,这种构象变化是酶的一种普遍性质。1964 年 Koshland 提出的"诱导契合"学说,认为酶活力中心的结构有一定的灵活性,在酶和底物接触之前,二者并不是完全契合的,当底物(或激活剂、抑制剂)与酶蛋白分子结合时,产生了相互诱导,酶蛋白分子的立体结构发生一定改变,使反应所需的催化基团和结合基团正确地排列和定向,转入有效的作用位置,这样,才能使酶和底物完全契合,酶反应才能高速度地进行。图 6-13 为"诱导契合"模式图。诱导契合理论比较满意地说明了酶的作用方式,并得到某些酶(如羧肽酶、溶菌酶)的 X 光衍射分析结果的支持。

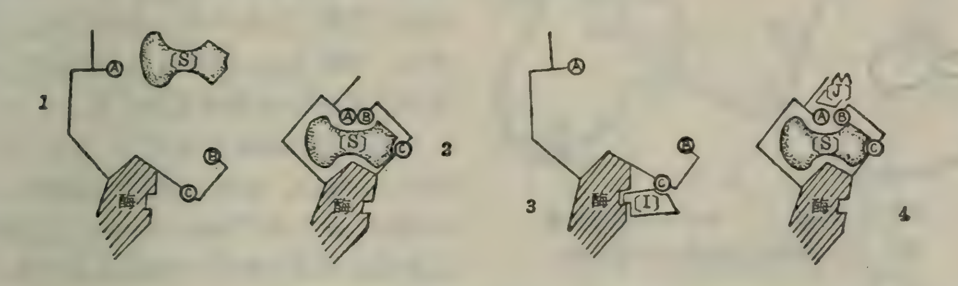


图 6-13　诱导契合的模式图

A、B 为酶分子上的催化基团;C 为酶分子上的结合基团;[S]为底物;[J]为激活剂;[I]为抑制剂。

1. 酶蛋白活力中心原有构象和底物。
2. 底物引入后,酶蛋白构象改变,使催化基团 A、B 并列,有利于与底物结合。
3. 抑制剂引起酶分子构象改变,使 C 固定,底物失去酶分子上 A、B 的协调而不能与酶络合,酶活性抑制。
4. 当有激活剂时,酶与底物络合的自由能更低,因此催化效率更高。

三、酶原和酶原激活

在体内有些酶原来呈不活泼状态,不具活性,由于另一些酶或酸的激活才变为具有活性的酶,这种不具催化活性的酶称为酶原,从不具活性的酶原转变为有活性的酶的过程,称为活化过程或激活过程。如胰蛋白酶刚从胰脏细胞里分泌出来时,呈不具活性的胰蛋白酶原,随着食物一起流到小肠后,酶原就被小肠粘膜所分泌的肠激酶作用,水解掉一个 6 肽,胰蛋白酶原就激活成具有催化活力的胰蛋白酶,如图 6-14 所示。用物理化学方法知道,由于切去了一个 6 肽后,使肽链螺旋度增加,丝氨酸与组氨酸互相靠近,形成新的活力中心,酶就具催化活力,当用化学方法破坏丝、组氨酸的活力中心后,酶的活力就消失。激活后生成的少量胰蛋白酶又可转过去激活其他胰蛋白酶原,进行自身激活。生产上使胰蛋白酶原活化成胰蛋白酶,通常就直接用活力高的胰酶在 pH7.6 条件下进行的。

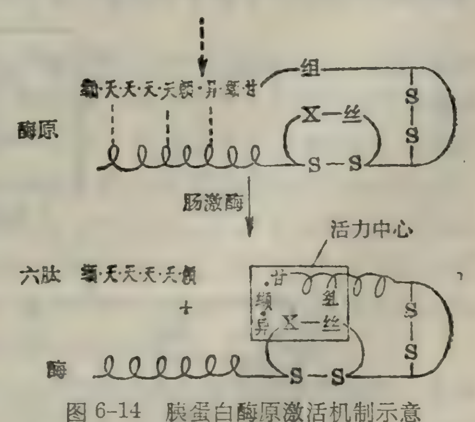


图 6-14　胰蛋白酶原激活机制示意

食物进入胃里,刺激胃酸分泌,原来无活性的分子量为 43,000 的胃蛋白酶原,受到 H^+

的催化作用，从氨基端切去六段多肽，变成具有催化活力的分子量为34,000的胃蛋白酶，这样形成的胃蛋白酶也可再去自身激活。

酶原的激活过程，是生物体的一种调控方式，以这种方式进行调控的酶有好几种。从消化系统中来的一些蛋白水解酶，往往都是以酶原形式被合成出来的，激活后才能在消化系统中起作用。血液凝固系统的许多酶，也都是以酶原形式被合成出来，然后被激活后才起作用。另外一些非酶蛋白也以这种方式进行调控。下面以胰凝乳蛋白酶原为例来讨论酶原的活化过程。

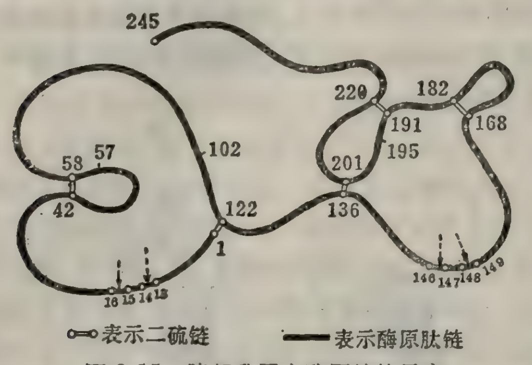


图 6-15　胰凝乳蛋白酶原结构示意

胰凝乳蛋白酶原是由245个氨基酸残基组成的单链酶蛋白，链内有五对二硫键使肽链折迭弯曲，见图6-15。酶原经胰蛋白酶的作用，切断Arg_{15}和Ile_{16}之间的肽键，就转变成有活性的π-胰凝乳蛋白酶，继而通过π-胰凝乳蛋白酶的自身作用，切去一段二肽($Ser_{14}\cdot Arg_{15}$)，生成δ-胰凝乳蛋白酶，进而再切去一段二肽($Thr_{147}\cdot Asn_{148}$)后就转变成更加稳定的具活性的α-胰凝乳蛋白酶，从单链成为由三条链组成的相互间通过两对二硫键相连而成的结构。

实验证明195位的丝氨酸和57位的组氨酸是此酶活力中心的二个关键性氨基酸，原来二者在氨基酸顺序排列上相距很远，而在酶原激活过程中，由于切去两段二肽，使酶蛋白分子的构象发生相应变化，这二个氨基酸残基就互相靠近。活化过程的关键是由于胰蛋白酶选择性地切断了Arg_{15}与Ile_{16}之间的肽键，使Ile_{16}游离。在中性条件下，Ile_{16}的$-NH_3^+$能和Asp_{194}的羧基$-C\langle^{O}_{O^-}$通过静电作用形成离子对，有助于Ser_{195}和His_{57}之间以及His_{57}又和Asp_{102}之间通过氢键形成一个“电荷转接系统”(见图6-17)，使Ser_{195}的—OH有更高的亲核性，有利于和底物进行作用。而在碱性条件下Asp_{194}与Ile_{16}之间的离子对破

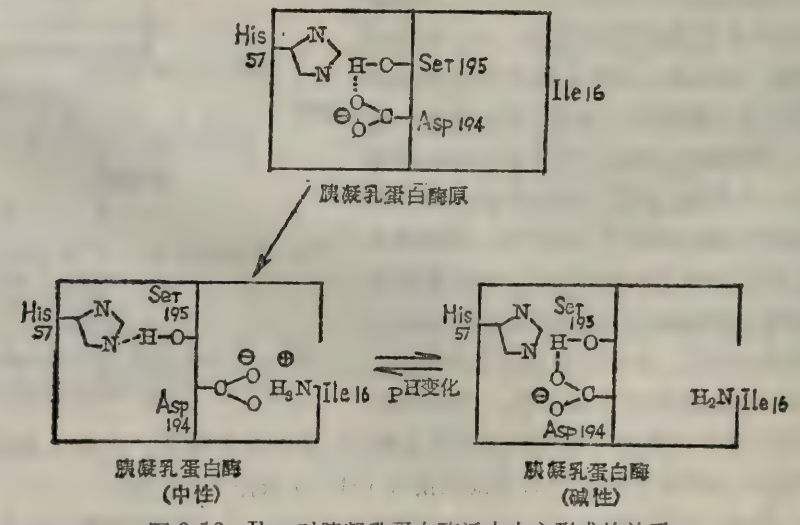


图 6-16　Ile_{16}对胰凝乳蛋白酶活力中心形成的关系

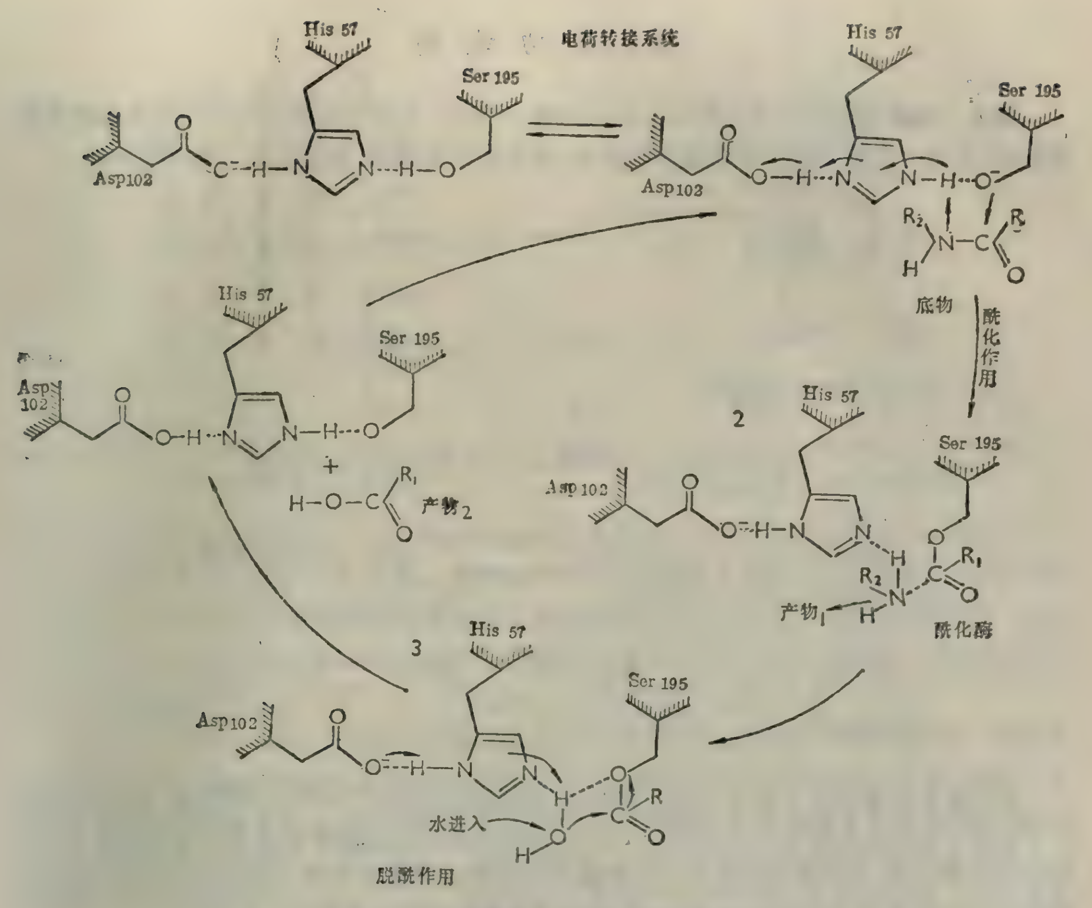


图 6-17 α-胰凝乳蛋白酶催化水解的推测过程

坏，Asp_{194} 的羧基又与 Ser_{195} 的 OH 形成氢键，破坏了催化中心，见图 6-16。这说明在激活过程中，Ile_{16} 的游离是十分关键的。

图 6-17 为 α-胰凝乳蛋白酶催化过程的假设性机制。当底物与该酶接近时，通过"电荷转接系统"使 Ser_{195} 羟基上的质子转移，造成 Ser_{195} 有很高的亲核能力，攻击底物的羰基碳原子形成四联体的过渡态中间物，然后 His_{57} 供给一个质子，使被作用的肽键断裂，释放出肽断片 R_2NH_2(产物$_1$)，同时产生了在 Ser_{195} 上酰化的酰化酶，这是酰化作用(图 6-16-1, 2)。水的进入，"电荷转接系统"又从水分子上拉下一个质子，产生 OH^-，又去攻击酰化酶上羰基碳原子，又一次形成过渡态中间物，这时 His 又把质子供给酰基部分，进行脱酰作用，酰化酶水解，放出 R_1COOH(产物$_2$)，酶活力中心重新形成(图 6-17-3, 4)。关于酶催化的作用机制的研究，对于阐明酶的催化本质和酶催化效率等都是十分重要的。

上述关于生物体内某些酶以酶原形式存在，这是具有一定生理意义的。消化腺分泌的一些蛋白酶，开始都是不具活性的酶原，这样就不致自身消化，而是到了肠、胃道后，再转变成有活性的酶。急性胰腺炎发病原因之一，就是由于部分胰蛋白酶原在胰腺内被激活，发生自身消化引起患者剧痛的症状。凝血酶以酶原形式存在于血液中，使血管中流动的血液不致发生凝固。

四、多功能酶

这是一类能催化两种或两种以上反应的酶。例如，利用色氨酸诱导产生的大肠杆菌色氨酸酶，就是一种含磷酸吡哆醛的多功能酶，并已经纯化结晶，它能催化下列一些反应：

1. $\text{吲哚-}CH_2CH(NH_2)COOH \xrightarrow{H_2O} CH_3COCOOH + \text{吲哚} + NH_3$

2. $CH_2(OH)CH(NH_2)COOH \xrightarrow{H_2O} CH_3COCOOH + NH_3$

3. $CH_2(SH)CH(NH_2)COOH \xrightarrow{H_2O} CH_3COCOOH + NH_3 + H_2S$

4. $\text{吲哚} + CH_2(OH)CH(NH_2)COOH \longrightarrow \text{吲哚-}CH_2CH(NH_2)COOH + H_2O$

5. $\text{吲哚} + CH_2(SH)CH(NH_2)COOH \longrightarrow \text{吲哚-}CH_2CH(NH_2)COOH + H_2S$

这种酶在某种条件下能催化某一种反应，而催化其他反应的活性受到抑制，例如正常情况下它除了能催化色氨酸的水解反应1外，也能催化某些氨基酸的脱氨基反应如反应2～3。当有吲哚存在时，它又能催化吲哚与丝氨酸或半胱氨酸合成色氨酸，而催化丝氨酸等脱氨的活性却受到抑制，因此多功能酶的存在，也是实现细胞内代谢调节的一种方式。

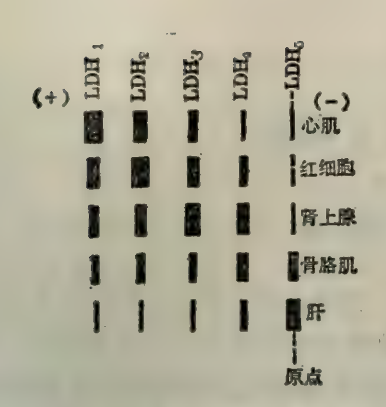
五、同功酶

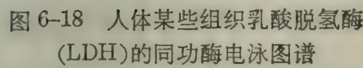
同功酶是指能催化相同的化学反应，但蛋白质分子结构不同的一类酶，存在于同一个体或同一组织中，它们在生理上、免疫上、理化性质上都存在差异。同功酶是代谢调控的一种方式。近年来随着酶分离技术的进步，已发现的同功酶有很多种，其中研究最多的为乳酸脱氢酶(LDH)。乳酸脱氢酶是以 NAD^+ 为氢受体，催化 L-乳酸氧化成丙酮酸：

$$CH_3COCOOH + NADH \longleftrightarrow \underset{\text{乳酸}}{CH_3CH(OH)COOH} + NAD^+$$

从各种组织中得到的 LDH 分子量都近于 150,000，都是由4个分子量各为37,500的亚基聚合而成的四聚体。人体和哺乳动物的乳酸脱氢酶以五种不同的分子形式存在于各组织中，图6-18是人体某些组织中乳酸脱氢酶的同功酶电泳图谱。

乳酸脱氢酶之所以有多种同功酶是与它的蛋白质分子结构有关的。据研究 LDH 是由H和M二种不同类型的蛋白亚基组成的四聚体。这二种亚基的氨基酸组成差别很大，因此在电泳中很容易分开。当H、M二种亚基以等量混合后它们可以任意地聚合成四聚体，形




图 6-18　人体某些组织乳酸脱氢酶（LDH）的同功酶电泳图谱

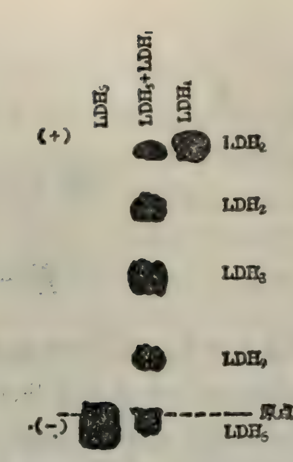


图 6-19　牛心 LDH_1 和 LDH_5 以及由 LDH_1 和 LDH_5 等量混合后的电泳图谱

成五种乳酸脱氢酶的同功酶。这五种同功酶的亚基组成分别为 $LDH_1=H_4$(即由四条 H 亚基蛋白聚合)；$LDH_2=H_3M_1$；$LDH_3=H_2M_2$；$LDH_4=H_1M_3$；$LDH_5=M_4$。把纯化的牛心肌 LDH_1 和 LDH_5 在 pH7 的磷酸缓冲液条件下等量混合后冰冻，使这二种四聚体解聚，然后再加温融化，使分开的亚基再聚合起来，就得到五种四聚体的 LDH 同功酶，在电泳图谱 6-19 上可看到 5 条带。

从图 6-18 可知，不同组织所含的同功酶是不同的，同功酶有组织器官特异性。如心肌中主要是 LDH_1，是典型的 H 型 LDH。骨胳肌中含 LDH_5 较多，属典型的 M 型 LDH。这二种同功酶对丙酮酸具有完全不同的性态。低浓度的丙酮酸对 H 型就有抑制作用。而 M 型则要在相当高的浓度下才受到影响，这种特性正巧与心肌和骨胳肌所处的生理条件和机能十分一致，起着调节的作用。因为心肌需要不停地工作以充分保证氧的供应，它所需要的能量是从三羧酸循环取得的，当需要更大量的能量时，丙酮酸加速形成只要达到一定浓度时，H 型的 LDH 就被抑制，使丙酮酸不去生成乳酸而进入三羧酸循环以获取更多的能量。而骨胳肌不象心肌那样能够及时地获得大量氧气，所需能量通常是从酵解得到的，当肌肉运动时，丙酮酸大量形成，并通过 M 型 LDH 的催化，使丙酮酸形成乳酸及 NAD^+，NAD^+ 又可进一步促进酵解的进行。只有当丙酮酸累积到相当高的浓度时，才能抑制 M 型的 LDH，使丙酮酸进入三羧酸循环。一般，H 型 LDH 多存在于好气环境的组织中，而 M 型 LDH 则相反。

同功酶的研究指出，在相当多种类的同功酶中，观察到在癌变过程中发生有向胚胎型转化的去分化现象，以醛缩酶为例，它有 A 型（肌肉型）、B 型（肝脏型）和 C 型（脑型），在胚胎期的细胞中只有 A 型，以后随着发育发生相应的分化，形成这三种类型。当肝细胞发生癌变时，已分化为 B 型的醛缩酶又逐渐转化为 A 型，去分化的程度与癌变的发展大体一致。由于这种向胚胎型转化的去分化是癌变的一种普遍而重要的生化特性，进行研究可用于早期诊断。

近年来同功酶的研究已应用于临床疾病的诊断指标。正常情况下，血清中 LDH 活力很低，多半由红血球渗出的。当某一器官或组织病变时，LDH 同功酶释放到血液中，血清的 LDH 同功酶电泳图谱就会发生一定变化。如心肌梗塞的病人和恶心贫血者，LDH_1 升高，肝癌和急性肝炎病人 LDH_5 升高，白血病患者则 LDH_4 升高。

第七章 维生素及辅酶

第一节 一般概念

维生素是生物生长和代谢所必需的微量有机物。最先分离出来的这种物质是维生素 B_1，它是一种胺(amine)，含有氨基，称为 Vitamine，即生命胺的意思，中文定名为维生素。后来发现各种维生素并非都含有氨基，因此原英文名词是不确切的，应该改动。但考虑到沿用很久，已成习惯，所以只将原名词的字尾 e 去掉，改为 Vitamin。维生素简称 V，如维生素 A 可用简称 V_A 来表示。

维生素和激素相似，需要的量很小，但作用很大。不过，激素由生物自身产生，而维生素大多是从外界摄取。

维生素是在生活实践中发现的。早在六、七世纪，我国已有关于脚气病的记载，认识到这是一种食米地区的病，并用富含维生素 B_1 的谷皮进行治疗。现在知道由于食米区的人们长期吃精磨的米，弃去了含有丰富维生素 B_1 的米糠，因而会生脚气病。当时，还记载有"雀目症"，用猪肝治疗。今知"雀目症"即夜盲症，是缺乏维生素 A 引起的，而肝脏含丰富的维生素 A，故能治疗此病。十八世纪欧洲航海的人已知道吃新鲜的水果和蔬菜可以治疗坏血病。坏血病是缺乏维生素 C 引起的。古时航海的人由于长期吃不到新鲜的蔬菜而得此病。

最初关于维生素的研究是从动物开始的。例如：有人做过动物实验，发现纯粹的糖、蛋白质、脂肪、盐类和水并不能养活他们的实验动物，可见决不是由于饲料中能量或蛋白质不足，而是因为缺少天然食物中的维生素；有人在实验动物中用精米饲养鸽，可使鸽生象人一样的脚气病。所以，对于人和动物来讲，其本身是不能合成维生素的，所需要的维生素一般要靠外界供给。

关于维生素的研究涉及动物方面较多，后来由于了解到多数维生素具有辅酶作用，而许多酶在动物、植物和微生物中又大多相同，那么很自然地便会产生这样一个问题：植物或微生物是否也象动物一样需要维生素？经过研究，人们发现在微生物中也有需要维生素的现象。例如：酵母菌在合成培养基中生长不良，当加入少许天然物后，便能旺盛生长，而天然物中的有效成分是多种维生素 B。以后又陆续发现其他细菌、真菌等都有类似的现象。由此可见，在微生物中也有和动物相似的情况，即它们本身不能合成所需要的维生素，而要靠外界供给。但也发现另外一种情况，有一些微生物能合成某些维生素，如大肠杆菌能合成维生素 K、生物素等，核黄菌能合成维生素 B_2。

高等植物一般都能在含有必要的盐溶液中生长，因此在整体植物中看不出需要维生素的现象。如果使植物不从完整的种子发芽生长，而将胚取出培养，那就可以发现即使在溶液中加入葡萄糖，胚还是不能生长。如果加入少许天然物或维生素后则能生长。这些天然物中的有效成分是维生素。可见高等植物也需要维生素，只是在它的某些部分可以合成并供给整体植物应用。例如豌豆的子叶是进行维生素 C 合成的地方，因此在除去子叶时，豌豆

幼苗生长不良，供给 V_C 可使该幼苗生长良好。

从上面的事例看来，所有的生物无论是高等动物、高等植物还是微生物，它们都需要维生素。只不过有些生物能合成，有些生物不能合成，或者有些生物体的某些部分能合成而某些部分不能合成罢了。所以，以前关于维生素是生物自己不能合成，一定要靠外界供给的物质的说法不能算是维生素的确切定义。只能说最初由于某些生物不能自己合成才使我们发现了它们。事实上，高等动物不能合成维生素和高等植物能够合成维生素的情况也不是绝对的。例如人能合成维生素 D；大小白鼠能合成维生素 C；高等植物不能合成维生素 B_{12}。

维生素需要的量非常小。例如：人每日约需 V_A0.8～1.7 毫克，V_{B_1}1～2 毫克，V_{B_2}1～2 毫克，泛酸 3～5 毫克，V_{B_6}2～3 毫克，V_{pp}10～20 毫克，生物素 0.2 毫克，叶酸 0.4 毫克，$V_{B_{12}}$2～6 微克，V_D0.01～0.02 毫克，V_E14～24 毫克，V_C60～100 毫克。维生素的需要量并不是绝对的。在某些特殊情况下需要量也相应发生变化。例如：V_{B_1} 和 V_{B_2} 的需要量是随着食物中总热量的增多而增加，一般为 0.5～0.6 毫克/千卡；孕妇及授乳者需要较多的 V_A、V_{B_1}、V_{B_2}、V_C 和 V_D。近年来也有人认为 V_C 需要的量比较大，提出发育儿童每日约需 1000 毫克 V_C，成年人每日约需 500 毫克 V_C，有各种不同的说法。

缺少维生素会影响生物正常的生命活动，使生物不能正常生长，甚至发生疾病。这种因缺乏维生素而发生的疾病，称为维生素缺乏症。

维生素需要的量虽小，但它对正常生命活动却具有重要的作用。绝大多数维生素是通过辅酶或辅基的形式参与生物体内的酶反应体系，也有少数维生素还具有一些特殊的生理功能。

生物对维生素的需要情况是由两方面的因素决定的。一方面是代谢过程中是否需要，另一方面是自身能否合成。因此，不同的生物对维生素的需要情况并不完全相同。例如维生素 D 对动物的成骨作用很重要，但植物并不需要它；大小白鼠能合成维生素 C，在饲料中不需加入维生素 C，而人和豚鼠不能合成维生素 C，所以必须从食物摄取。

人类所需要的维生素，广泛存在于食物中。除了营养不良、饮食单调或食物保存加工不当可造成维生素缺乏外，某些疾病或其他特殊原因也能引起维生素不足和缺乏。例如，肠炎及肝、胆疾病可阻碍维生素的吸收；长期口服抗菌素可抑制肠道菌生长，从而引起 V_K、生物素、叶酸、泛酸等维生素缺乏；妊娠、哺乳、强体力劳动、高温操作等由于需要的总热量增加，对 V_{B_1} 和 V_{B_2} 的需要亦相应增加，如不及时补给，往往也会引起维生素缺乏症。因此，维生素有着重要的应用价值，在医疗上一般用于防治维生素不足引起的疾病。近年来还发现某些维生素的新用途。例如，V_{K_3} 可治疗胆道蛔虫所致的胆绞痛；V_C 有抗动脉硬化和抗癌作用，对此还有待于进一步探讨。

维生素并不是补品，人体每天需要量有一定范围，多吃并不一定有好处。若使用不当，反而会导致疾病。例如，长期大量使用 V_A 和 V_D 会引起中毒；V_{B_1} 用量过多会引起周围神经痛觉缺失；长期大量使用 $V_{B_{12}}$ 会引起红细胞过多；口服 V_C 过多可破坏膳食中的 $V_{B_{12}}$ 而引起贫血。所以，维生素的合理使用很重要。

维生素不仅与医学密切有关，而且对发酵工业亦很重要，在微生物培养和发酵时需要某些维生素作为生长因子。例如培养生产赖氨酸的棒杆菌时，需要加入生物素。

维生素都是小分子有机物，它们在化学结构上无共同性，有脂肪族、芳香族、脂环族、杂环和甾类化合物等。通常根据它们的溶解性质分为脂溶性和水溶性两大类。脂溶性有维生

素 A、D、E、K、硫辛酸；水溶性有维生素 B 族(B_1、B_2、烟酸和烟酰胺、B_6、泛酸、生物素、叶酸、B_{12} 等)和维生素 C。

近年来，有人将临床应用的某些药物也归入维生素类，如乳清酸(B_{13})、腺嘌呤磷酸盐(B_4)和维生素 U 等，其实它们有的并不是人类所必需的营养物质。

第二节　脂溶性维生素

一、维 生 素 A

维生素 A 的化学本质是一个具有脂环的不饱和的单元醇。从碳架结构看来似由 4 个异戊二烯单位构成，共有 5 个共轭双键。维生素 A 有 A_1、A_2 两种，二者区别在于 A_2 的脂环在 3 位上多一个双键，A_2 的活性较 A_1 小。A_1 主要存在于海水鱼肝脏内，A_2 主要存在于淡水鱼肝脏内。其他动物的肝、乳中也含有丰富的维生素 A。

维生素 A_1　　　　维生素 A_1(简写式)

高等植物如胡萝卜、菠菜、番茄、枸杞子等都普遍存在着的胡萝卜素，其结构与维生素 A 非常相似，人以及某些动物吃后，在体内可以转化为维生素 A。如牛食草后，乳中维生素 A 含量很高。人体可从胡萝卜素转变而得到维生素 A。

维生素 A 很易氧化，遇热和光更易氧化。烹调时，由于加热及接触空气而氧化损失一部分维生素 A。冷藏食品可保持大部分维生素 A，而日光曝晒过的食品中维生素 A 大量被破坏。天然食物中维生素 A 较稳定，脱水食物中大量被破坏。

维生素 A 能维持上皮组织的正常结构和功能，组成视色素，促进粘多糖合成和骨的形成和生长等。维生素 A 缺乏症的主要症状之一为皮肤及各器官如呼吸道、消化道、腺体等的表皮角质化。在皮肤上的病变表现为皮肤粗糙、毛囊角质化等，称为蟾皮病；在眼部的病变是角膜和结膜表皮细胞退变，泪液分泌减少，泪腺萎缩，失去抵抗病菌入侵的功能，称为眼干燥症和角膜软化症。夜盲症是维生素 A 缺乏症的另一主要症状，表现为暗适应的丧失或延长。所谓暗适应就是眼从明到暗的适应过程，正常开始适应约为 4～5 分钟，完全适应约为 20～30 分钟。在人类中感受暗光的视色素为视紫红质，它是由维生素 A_1 转变成的 11-顺视黄醛与视蛋白结合而成的络合物，在暗光中结合，强光中又分解。

11-顺视黄醛

$$11\text{-顺视黄醛}+\text{视蛋白} \underset{\text{强光}}{\overset{\text{暗光}}{\rightleftharpoons}} \text{视紫红质}$$

眼睛对弱光的感光性取决于视紫红质的浓度。当缺乏维生素 A 时，视紫红质合成受阻，使视网膜不能很好感受弱光，在暗处不能辨别物体，当完全丧失暗适应的能力时，称为夜盲症。在轻度缺乏维生素 A 时，也有暗适应延长的现象，故维生素 A 与视觉关系极为密切。

据报道，维生素 A 有抑制癌变、促进癌细胞自溶等抗癌作用。动物实验表明维生素 A 缺乏可促进致癌物与气管上皮 DNA 的结合，这可能是致癌过程中决定性的一步。

临床用于防治夜盲症、眼干燥症、蟾皮病等维生素 A 缺乏症。近年来试用于防治癌症，收到一定的疗效，尚有待于进一步探讨。

但是，维生素 A 过多也会引起中毒。维生素 A 中毒目前多见于1～2岁的婴幼儿，有毛发枯干易脱、皮肤干燥、瘙痒、烦躁、厌食、肝大及出血等症状。一般是因为鱼肝油服用过多而引起的。鱼肝油含丰富的维生素 A 和 D，用鱼肝油来治疗佝偻病是不合理的，因维生素 D 满足治疗所需而维生素 A 却可蓄积中毒。

二、维生素 D

维生素D能抗佝偻病和软骨病，当严重不足时在婴孩中引起佝偻病，成人则发生软骨病。

维生素 D 是一类抗佝偻病物质的总称，它们都是类固醇化合物，含有环戊烷多氢菲结构，其中效力最大的为 D_2 和 D_3。D_2 又称麦角钙化(甾)醇，D_3 又称胆钙化(甾)醇。D_2 和 D_3 的结构只是在侧链上稍有不同，D_2 在 C-22 上为双键、C-24 上有一个甲基。

麦角甾醇 —紫外光→ 麦角钙化(甾)醇；D_2

7-脱氢胆固醇 —紫外光→ 胆钙化(甾)醇；D_3 —肝→ 25-OH D_3 —肾→ 1, 25-$(OH)_2D_3$

有些物质原来不具有抗佝偻作用，经紫外线照射后才具有抗佝偻作用，如酵母中提取的麦角甾醇，经紫外线照射后结构转变为D_2。麦角甾醇是制备D_2的原料，人肠道不能吸收麦角甾醇。

人体皮肤中含有7-脱氢胆固醇，为D_3的前体，经太阳光紫外线照射后，可转变为D_3，是人体维生素D的主要来源。一般情况下，人体通过皮肤合成的D_3足够维持机体应用。常作日光浴和户外活动可预防佝偻病的发生。

近年来发现维生素D在体内的活性形式是1, 25-二羟基胆钙化(甾)醇，简写为1, 25-$(OH)_2D_3$。体内的D_3必须经肝脏羟化成25-OH D_3，后者再经肾脏羟化成1, 25-$(OH)_2D_3$才能发挥作用。

维生素D的主要生理功能是具有促进成骨的作用。体内的维生素D转化为活性形式1, 25-$(OH)_2D_3$以后，可促进肠道粘膜合成钙结合蛋白，使小肠对钙和磷的吸收增加，同时1, 25-$(OH)_2D_3$可控制肾对磷的排出或回吸收，从而维持血浆中钙、磷浓度的正常水平，而这正是成骨作用的必要条件。维生素D还具有促进成骨细胞形成和促进钙在骨质中沉积成$Ca_3(PO_4)_2$、$CaCO_3$等骨盐的作用，有助于骨骼和牙齿的形成。缺少维生素D的婴孩，肠内钙、磷吸收发生障碍，血液中钙、磷量下降，骨、牙不能正常发育，临床表现为手足搐搦，严重者导致佝偻病。

在成骨区，成骨细胞分泌的碱性磷酸酯酶能水解有机磷酸酯，使无机磷酸盐浓度增加，保证骨盐的正常沉积和骨骼钙化变硬。缺乏维生素D时，由于血钙过低，骨钙化受阻形成钙化不足的软骨，因此产生骨畸形。缺V_D的早期，成骨细胞的活力大于正常人，所以血液中碱性磷酸酯酶的活力很高。测定血清中碱性磷酸酯酶的活力，有助于早期诊断佝偻病。

维生素D可防治佝偻病、软骨病和手足搐搦症等，但在使用维生素D时应先补充钙。大剂量久用可引起维生素D过多症，表现为血钙过高、骨破坏、异位钙化和动脉硬化等。

鱼肝油、肝、蛋类等动物性食物都是维生素D的主要来源。

三、维 生 素 K

维生素K与凝血作用有关，具有抗出血不凝的作用。缺乏维生素K时，出血时间和凝血时间延长。

天然的有维生素K_1、K_2两种，从化学结构看都是2-甲基-1, 4-萘醌的衍生物，区别仅在于R基团上。

2-甲基-1, 4-萘醌(甲萘醌)

$$K_1,\quad R=-CH_2-CH=\overset{\overset{\displaystyle CH_3}{|}}{C}-(CH_2)_3-(\overset{\overset{\displaystyle CH_3}{|}}{C}H-CH_2-CH_2-CH_2)_2-CH(CH_3)_2$$

植基(叶绿基)

$$K_2,\quad R=-CH_2-(CH=\underset{\underset{\displaystyle CH_3}{|}}{C}-CH_2-CH_2)_5-CH=\overset{\overset{\displaystyle CH_3}{|}}{C}-CH_3$$

双法呢基

K_3：亚硫酸氢钠甲萘醌　　K_4：乙酰甲萘醌　　矶松素

维生素 K_1 和 K_2 均为脂溶性，临床应用不便。后来，深入了解到维生素 K 中萘醌环 3 位上的基团不是必需的，并人工合成了 K_3 即甲萘醌，效力比 K_1 大。但 K_3 仅微溶于水，且对粘膜刺激性较大，也不便于使用，但可作为药品检定标准。目前在医疗上使用的 K_3 是亚硫酸氢钠甲萘醌，又称维克素。人工合成的亚硫酸氢钠甲萘醌和乙酰甲萘醌(K_4)均溶于水，使用方便，但作用均较缓慢。K_1 作用较快而持久，且无 K_3 可能引起的损害肝细胞的副作用，故 K_1 仍应用于临床且已人工合成。

维生素 K 能加速血液凝固，是促进肝脏合成凝血酶原(或称凝血因子 II)的必要因素。当人或动物受伤流血后，血液能很快凝固，这是由于组织受损伤后，组织和血小板中的凝血因子进入血液，使凝血酶原激酶原(因子 X)转变为凝血酶原激酶(因子 Xa)。后者再和促凝血球蛋白(因子 Va)、Ca^{++}(因子 IV)等共同作用使凝血酶原(因子 II)转变为凝血酶(因子



图 7-1　血液凝固机制

II_a)。凝血酶使血纤维蛋白原脱去分子两端的部分肽链，变成易于聚合的血纤维蛋白单体，单体再聚合成线聚血纤维蛋白，后者又互相交织成网，将血小板、白细胞、红细胞等网罗在一起，形成了(交聚)血纤维(蛋白)，俗称血凝块。总之，血液凝固的机制实际上是由许多凝血因子参与的一环扣一环的级联反应，详见图 7-1。V_k 可使凝血酶原中谷氨酸残基的 γ 碳羧化。此外，维生素 K 对另外几种凝血因子 X、IX、VII 和 V 的生物合成也很重要。缺 V_k 时，不能形成正常的含 γ-羧基 Glu 的凝血酶原，凝血因子 X、IX 等减少，从而影响了血液凝固。

维生素 K 对于防治因维生素 K 缺乏所致的出血症，如新生儿出血、长期口服抗菌素所致的出血症以及有出血倾向的肝昏迷、阻塞性黄疸等肝病有很好疗效，但它对并非由于缺乏 K 所致的出血症如血友病等则无疗效。

维生素 K 不仅能促进肝脏合成凝血酶原，还能延缓皮质激素在肝脏中的分解，间接起到增强皮质激素的作用。它在氧化磷酸化过程中也具有重要的偶联作用，从而激发肝细胞，增强其对营养的捕捞能力以便于修复。

近年来新发现维生素 K_3 具有解痉作用。 矶松素是我国民间止痛草药中分离出的一种止痛解痉成分，经过分析鉴定，发现矶松素的结构与维生素 K_3 的结构极为相似，用维生素 K_3 替代矶松素，同样具有止痛解痉作用，尤其对用阿托品也不见效的胆道蛔虫病的胆绞痛，具有很好的疗效。

一般情况下人体不会缺乏维生素 K，因为维生素 K 在自然界绿色植物中含量丰富，另一方面因人和哺乳动物的肠道中大肠杆菌可以产生维生素 K。只有当长期口服抗菌素或磺胺药使肠道菌生长抑制或因脂肪吸收受阻，或因食物中缺乏绿色蔬菜，才会发生维生素 K 缺乏症。新生婴儿由于肠道中缺乏细菌及吸收不良，可能暂时出现缺乏症。

肝、鱼、肉、苜蓿、菠菜、青菜等绿叶蔬菜中含有丰富的维生素 K。

四、维 生 素 E

又称生育酚，有 α、β、γ、δ 四种，其中以 α 型活性最大，结构式如下：

α-生育酚(5, 7, 8-三甲基母育酚)

β-生育酚是 5, 8-二甲基母育酚；γ-生育酚是 7, 8-二甲基母育酚；δ-生育酚是 8-甲基母育酚。β 型和 γ 型的活力为 α 型的 50%，而 δ 型的活力只有 α 型的 1%。维生素 E 溶于“脂肪溶剂”及脂肪中。无氧时很耐热，当温度高至 200°C 也不被破坏。由于它极易被氧化而保护其他物质不被氧化，故具有抗氧化作用。常用来保护脂肪或维生素 A 使不受氧化。

维生素 E 与氧化磷酸化过程有密切关系，其作用可能与氧还过程有关。目前对于它的氧化过程尚不清楚，它的代谢产物从尿中排出，结构式如下：

$$
\begin{array}{c}
\text{(chemical structure: 2,5,7,8-tetramethyl-3,6-dihydroxyphenyl–}CH_2\text{–}CH_2\text{–}C(CH_3)\text{ lactone ring with O–C=O, }CH_2\text{, }H_2\text{)}
\end{array}
$$

V_E 能保护生物膜，例如它能增强细胞对废气的抵抗力。动物实验表明，它能防止细胞膜中的多烯脂肪酸因接触臭氧等废气而过氧化，使细胞免受损伤和癌变。也有报道，维生素 E 能保护肌细胞内质网中的多烯脂肪酸使不受过氧化。V_E 是生物膜的组分之一，量虽少但很重要。

维生素 E 对鼠和昆虫的生殖机能很重要，缺少它会造成不育。对人类生殖机能的重要性不很明确，但临床上也用于防治流产和早产。

维生素 E 能维持骨骼肌、心肌、周围血管系和脑细胞等的正常结构和功能。临床用于进行性肌营养不良、心脏病、血管病等。

V_E 的许多功能可能与它的抗氧化作用密切有关。肝病时血中维生素 E 浓度降低，而维生素 E 缺乏可引起肝细胞坏死。有人认为应将维生素 E 作为治疗肝炎的辅助用药。

麦胚油、棉籽油、玉米油、大豆油中含有丰富的维生素 E，豆类及绿叶蔬菜含量也较多。

五、硫　辛　酸

化学结构是一个含硫的八碳酸，在 6, 8 位上有二硫键相连，又称 6, 8-二硫辛酸。以氧化型和还原型二种形式存在。

$$
\begin{array}{l}
CH_2-S \\
/ \qquad | \\
CH_2 \quad | \\
\backslash \qquad | \\
CH-S \\
| \\
(CH_2)_4 \\
| \\
COOH
\end{array}
\underset{-2H}{\overset{+2H}{\rightleftharpoons}}
\begin{array}{l}
CH_2-SH \\
/ \\
CH_2 \\
\backslash \\
CH-SH \\
| \\
(CH_2)_4 \\
| \\
COOH
\end{array}
$$

简式为：

$$
\underset{\text{氧化型}}{L\begin{array}{l}/S \\ \ \ | \\ \backslash S\end{array}}
\underset{-2H}{\overset{+2H}{\rightleftharpoons}}
\underset{\text{还原型}}{L\begin{array}{l}/SH \\ \\ \backslash SH\end{array}}
$$

在代谢作用中作为 α-酮酸氧化脱羧酶和转羟乙醛基酶的辅酶，起转运酰基和氢的作用，与糖代谢关系密切。

临床试用于肝炎等疾病。

在食物中常和维生素 B_1 同时存在。

第三节　水溶性维生素

一、维生素 B_1 和 TPP

B_1 为抗神经炎的维生素，因为它是由含硫的噻唑环和含氨基的嘧啶环所组成，故又称

硫胺(素)。其纯品大多以盐酸盐形式存在,在体内经常以硫胺磷酸酯(TP)或硫胺焦磷酸酯(TPP)形式存在。

硫胺磷酸酯(TP)

硫胺焦磷酸酯(TPP)

α-羟乙基 TPP($CH_3CHO \cdot TPP$)

TPP 是丙酮酸氧化脱羧酶、α-酮戊二酸氧化脱羧酶和转羟乙醛基酶的辅酶,因此 B_1 对维持正常糖代谢具有重要作用。TPP 的功能部位在噻唑环的 2 位碳原子上。由于 3 位上 N^+ 的正电荷有助于 C-2 失去质子而具电负性,故 C-2 很易和 α-酮酸形成加成物而有利于脱羧反应。例如在丙酮酸的氧化脱羧反应中,TPP 先与丙酮酸形成加成物,然后脱羧生成 α-羟乙基 TPP($CH_3CHO \cdot TPP$),后者再通过氧化型硫辛酸将乙酰基转给辅酶 A,生成乙酰辅酶 A 进入三羧酸循环。

由于 B_1 和糖代谢关系密切,因此多食糖类食物,B_1 的需要量也相应增多(0.5 毫克/千卡)。当 B_1 缺乏时,糖代谢受阻、丙酮酸积累,使病人血、尿和脑组织中丙酮酸含量升高,出现多发性神经炎、皮肤麻木、心力衰竭、四肢无力、肌肉萎缩、下肢浮肿等症状,临床称为脚气病。上述症状中的一部分可能与组织中积累丙酮酸有关,但根据目前对 B_1 功能的了解,尚难对脚气病的所有症状作出满意的解释。

维生素 B_1 还具有维持正常的消化腺分泌和胃肠道蠕动从而促进消化的功能。这可能是由于它能可逆地抑制胆碱酯酶,使乙酰胆碱的分解速度适当而保证神经兴奋过程的正常传导所致。轻度缺乏 B_1,出现食欲不振、消化不良的症状,就是因为消化液分泌减少和胃肠道蠕动缓慢所引起的。

近年来合成了结构和 B_1 相似的呋喃硫胺,又称新 B_1。它的药效较 B_1 迅速持久,而不被体内硫胺酶所破坏,对神经系统症状有较明显的疗效。新 B_1 的结构式如下:

呋喃硫胺(新 B_1)

维生素 B_1 在植物中广泛分布,谷类、豆类的种皮中例如米糠含量很丰富。精白米和精白面粉中 B_1 含量远不及标准米、标准面粉的高。酵母中含量尤多。

维生素 B_1 在酸性溶液中较稳定，中性或碱性中易破坏。在烹调豆类食物时不宜加碱，因碱会使 B_1 水解破坏。B_1 耐热，在 pH3.5 以下时虽加热到 120℃ 亦不被破坏。B_1 极易溶于水，故米不宜淘洗太多，以免损失。

二、维生素 B_2 和 FAD、FMN

维生素 B_2 又称核黄素，按其化学本质是核糖醇和 6, 7-二甲基异咯嗪的缩合物。在 1 位和 10 位 N 之间有两个活泼的双键，易起氧化还原作用。维生素 B_2 有氧化型和还原型两种形式，在生物体内的氧化还原过程中起传递氢的作用。

B_2(6, 7-二甲基-9-D-核糖醇异咯嗪)

氧化型(黄色)　　+2H / −2H　　还原型(无色)　　R: 核糖醇

维生素 B_2 耐热，在酸性环境中较稳定，但遇光易破坏。在碱性溶液中不耐热，且对光更为敏感，所以在烹调食物时不宜加碱。B_2 的水溶液具绿黄色荧光，利用这一性质可作定量分析。

在体内核黄素是以黄素单核苷酸(FMN)和黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)形式存在，是生物体内一些氧化还原酶(黄素蛋白)的辅基，与蛋白部分结合较牢。它们和核黄素一样以氧化型和还原型两种形式存在，具有传递氢的作用。在异咯嗪部分进行脱氢和加氢的作用。

FMN 又称磷酸核黄素，即在核黄素分子的核糖醇基上接上一分子磷酸。FAD 由一分子 FMN 与一分子腺苷酸相连而成。

黄素单核苷酸(磷酸核黄素，FMN)

黄素腺嘌呤二核苷酸(FAD)

以 FAD 为辅基的酶有琥珀酸脱氢酶、脂酰辅酶 A 脱氢酶等，以 FMN 或 FAD 为辅基的酶有 L-氨基酸氧化酶等。FMN 和 FAD 都是氢递体，在传递氢的过程中作为氢的受体或供体。其传递氢的作用可用简式表示如下：

$$\mathrm{FMN} \underset{-2\mathrm{H}}{\overset{+2\mathrm{H}}{\rightleftharpoons}} \mathrm{FMN \cdot 2H}$$

维生素 B_2 广泛参与体内的各种氧化还原反应，能促进糖、脂肪和蛋白质的代谢。它对维持皮肤、粘膜和视觉的正常机能均有一定的作用。缺乏 B_2 时组织呼吸减弱，代谢强度降低，主要症状为口角炎、舌炎、结膜炎、视觉模糊、皮脂溢出性皮炎等。临床用于治疗因缺乏 B_2 所引起的各种粘膜及皮肤的炎症等。

维生素 B_2 广泛存在于动、植物中。米糠、酵母、肝、蛋黄中含量丰富。微生物核黄菌有合成核黄素的能力，我国医用核黄素除了化学合成和从酵母中提取以外，也利用豆腐渣水、缫丝废水等进行微生物发酵生产。

三、维生素 PP 和辅酶 I、辅酶 II

维生素 PP 又称抗糙皮病（癞皮病）维生素，包括烟酸和烟酰胺，含有氮杂环吡啶。在体内主要以酰胺形式存在。

烟酸（尼克酸，抗黑舌因子）

烟酰胺（尼克酰胺，B_5）

烟酰胺是生物体内辅酶 I 和辅酶 II 的组成成分，这两种辅酶都是脱氢酶的辅酶，在氧化过程中作为氢的受体或供体，起传递氢的作用。

辅酶 I 简称 NAD^+、CoI 或 DPN。NAD^+ 即烟酰胺腺嘌呤二核苷酸，DPN 即二磷酸吡啶核苷酸。辅酶 II 简称 $NADP^+$、CoII 或 TPN。$NADP^+$ 即烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸酯，

TPN 即三磷酸吡啶核苷酸。在这些简称中，以 NAD^+ 和 $NADP^+$ 较为合理，因能正确反映其化学结构。

R=H，为辅酶 I

$R=H_2PO_3$，为辅酶 II

辅酶 I 和辅酶 II 在传递氢的作用中变化如下：

R_1 为核糖残基。R_2 在 NAD^+ 中为腺苷酸残基；在 $NADP^+$ 中为腺苷酸磷酸酯残基。

也可用简式表示：

$$NAD^+ \underset{-2H}{\overset{+2H}{\rightleftharpoons}} NADH + H^+ \quad 或 \quad CoI \underset{-2H}{\overset{+2H}{\rightleftharpoons}} CoI \cdot 2H$$

NAD^+ 和 $NADP^+$ 参与许多氧化还原反应，这些反应一般是可逆的。NAD^+ 常和产生能量的分解反应有关，而 $NADP^+$ 则较多地和还原性的合成反应有关。NAD^+ 是呼吸链中传递氢过程中的一环。在多数情况下，代谢物上的氢先交给 NAD^+，再交给黄素蛋白中的 B_2，然后逐步交给氧。但也存在另外一种情况，代谢物上的氢先交给 NAD^+ 或 $NADP^+$，生成还原型的 NADH 或 NADPH，后者再将氢去还原另一个代谢物。例如在糖的无氧分解中，催化 3-磷酸-甘油醛脱氢磷酸化形成 1，3-二磷酸甘油酸的 3-磷酸甘油醛脱氢酶和催化丙酮酸还原成乳酸的乳酸脱氢酶，都需要辅酶 I 作为氢的传递体。NAD^+ 接受了从 3-磷酸甘油醛脱下的氢后形成 NADH，后者把氢传给丙酮酸使还原成乳酸，本身脱氢后又成氧化型 NAD^+，起偶联反应的作用，见图 7-2。

此外，NAD^+ 也是 DNA 连接酶的辅酶，对 DNA 的复制有重要作用，为形成 3′，5′-磷酸二酯键提供所需要的能量。

烟酰胺在动植物中分布很广。酵母、米糠中含量最多。豆类、蔬菜、茶、肝、肉等都是它的重要来源。人体可以利用色氨酸合成少量的烟酰胺，但不能满足需要，还需从食物中供给。以玉米为主食易患烟酰胺缺乏症，因玉米中色氨酸贫乏，故糙皮病又称蜀黍红斑病。

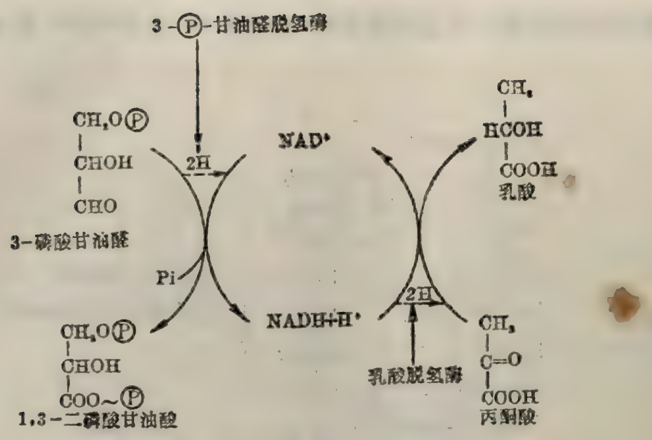


图 7-2　NAD 参与的氧化还原反应

烟酰胺和烟酸用于糙皮病等缺乏症。此外，烟酸亦可作为血管扩张药。烟酸肌醇酯是一种温和的周围血管扩张药，并具有降低胆固醇的作用，临床用于高胆固醇血症、闭塞性动脉硬化和冻伤等症。

对结核病有特效的异烟肼和烟酰胺的结构非常相似，能抑制结核菌繁殖，使该菌不能正常利用烟酰胺，起抗代谢作用。

$CONHNH_2$

N

异烟肼(雷米风，INH)

四、维生素 B_6 和磷酸吡哆醛、磷酸吡哆胺

维生素 B_6 又称抗皮炎维生素，具有抗皮肤炎的功能。化学结构是吡啶的衍生物，包括三种结构类似的物质，即吡哆醇、吡哆醛和吡哆胺：

CH_2OH　HO-　-CH_2OH　H_3C-　N

吡哆醇

CH_2NH_2　HO-　-CH_2OH　H_3C-　N

吡哆胺

CHO　HO-　-CH_2OH　H_3C-　N

吡哆醛

维生素 B_6 在生物体内都是以磷酸酯形式存在。参加代谢作用的主要是磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺，也可用简式 $P—\overset{H}{C}=O$ 和 $P—CH_2NH_2$ 表示，二者可以相互转化：

磷酸吡哆醛　　　　磷酸吡哆胺

$$P\text{—}\overset{H}{C}\text{=O} \rightleftharpoons P\text{—}CH_2NH_2$$

它们在氨基酸的转氨基作用和脱羧作用中起辅酶作用，与氨基酸代谢密切有关。多食蛋白质类的物质，对 B_6 的需要也相应增多。

(1) 在转氨基作用中，磷酸吡哆醛和磷酸吡哆胺是转氨酶的辅酶。

$$\underset{COOH}{\overset{R_1}{CHNH_2}} + \underset{COOH}{\overset{R_2}{C{=}O}} \xrightleftharpoons[\text{转氨酶}]{P\overset{H}{C}{=}O,\ P\overset{H_2}{C}NH_2} \underset{COOH}{\overset{R_1}{C{=}O}} + \underset{COOH}{\overset{R_2}{CHNH_2}}$$

磷酸吡哆醛先接受氨基酸上的氨基，形成磷酸吡哆胺，然后再把氨基转移到另一酮酸上，是氨基的中间传递体。

$$H_2N\overset{R_1}{C}HCOOH + H\overset{P}{C}{=}O \rightarrow \overset{R_1}{C}(=O)\text{—}COOH + H_2\overset{P}{C}\text{—}NH_2$$

$$H_2\overset{P}{C}\text{—}NH_2 + \overset{R_2}{C}(=O)\text{—}COOH \rightarrow H_2N\overset{R_2}{C}HCOOH + H\overset{P}{C}{=}O$$

维生素 B_6 转氨基作用的机制是：氨基酸和磷酸吡哆醛缩合形成希夫氏碱，后者在重排后水解并释出酮酸，而氨基残留在辅酶上，形成磷酸吡哆胺，以上各步都是可逆的，另一个酮酸和磷酸吡哆胺通过这些反应的逆反应又可形成相应的氨基酸和酮酸，同时再生成磷酸吡哆醛。反应过程如下：

$$\underset{COOH}{\overset{R_1}{HCNH_2}} + O{=}\overset{P}{C}H \xrightarrow{-H_2O} \underset{\text{希夫氏碱}}{\underset{COOH}{\overset{R_1}{HCN}}{=}\overset{P}{C}H} \xrightarrow{\text{重排}} \underset{\text{希夫氏碱}}{\underset{COOH}{\overset{R_1}{C}}{=}N\text{—}\overset{P}{C}H_2} \xrightarrow{+H_2O} \underset{COOH}{\overset{R_1}{C{=}O}} + H_2N\text{—}\overset{P}{C}H_2$$

$$\underset{COOH}{\overset{R_2}{C{=}O}} + H_2N\overset{P}{C}H_2 \xrightarrow{-H_2O} \underset{COOH}{\overset{R_2}{C}}{=}N\text{—}\overset{P}{C}H_2 \xrightarrow{\text{重排}} \underset{COOH}{\overset{R_2}{HC}}\text{—}N{=}\overset{P}{C}H \xrightarrow{+H_2O} \underset{COOH}{\overset{R_2}{HCNH_2}} + O{=}\overset{P}{C}H$$

(2) 在氨基酸的脱羧反应中，磷酸吡哆醛是许多氨基酸和氨基酸衍生物脱羧酶的辅酶，可促使它们转变为相应的胺，并放出 CO_2。反应机制还没有完全弄清楚，也可能形成希夫氏碱，后者有利于从氨基酸移去 CO_2。

$$\underset{COOH}{\overset{R}{HCNH_2}} \xrightarrow[P\text{—}\overset{H}{C}{=}O]{\text{氨基酸脱羧酶}} \underset{H}{\overset{R}{HCNH_2}} + CO_2$$

通过这种反应可形成许多重要物质，如神经递质多巴胺、γ-氨基丁酸、γ-氨酪酸、血红

素合成中的中间物δ-氨基-γ-酮戊酸等。

多巴　希夫氏碱　希夫氏碱　多巴胺

此外，B_6 也是丝氨酸转羟甲基酶的辅酶，所以它也参与转 C_1 反应；有许多迹象表明 B_6 和多烯脂肪酸代谢有密切关系，如在实验动物中 B_6 有节省必需脂肪酸的作用，对此还需作深入的研究。

缺乏维生素 B_6 可产生呕吐、中枢神经兴奋、惊厥、小红细胞低色素性贫血（又称铁粒幼细胞性贫血）等。B_6 常用于治疗呕吐、动脉粥样硬化症、粒细胞减少等症。由于异烟肼和吡哆醛可结合形成腙而从尿排出，引起 B_6 缺乏症，故 B_6 也可用于防治因大剂量异烟肼所导致的中枢兴奋、周围神经炎和小红细胞低色素性贫血等病症。

维生素 B_6 在动植物中分布很广，蜂皇浆、麦胚芽、米糠、大豆、酵母、蛋黄、肝、肾、肉、鱼中含量很多。

五、生　物　素

生物素旧称维生素 B_7 或维生素 H，是由噻吩环和尿素结合而成的一个双环化合物，侧链上有一戊酸。在某些微生物中生物素是以氧代和脱硫的形式存在，称为氧代生物素和脱硫生物素。

生物素　脱硫生物素　氧代生物素

生物素对某些微生物如酵母菌、细菌等的生长有强烈的促进作用。动物缺乏生物素时毛发脱落、皮肤发炎。人和动物因肠道中有些微生物能合成，故一般不会缺乏。吃生鸡蛋清过多或长期口服抗菌素，易患缺乏症，表现为鳞屑状皮炎、抑郁等。这是因为未经煮熟的鸡蛋清中有一种抗生物素的蛋白，能与生物素结合而使生物素不能为肠壁吸收。

生物素与细胞内的 CO_2 固定有关，是羧化酶如丙酮酸羧化酶、乙酰辅酶 A 羧化酶的辅基。近年来从猪心中提纯到丙酰辅酶 A 羧化酶的结晶，经过分析发现生物素是通过戊酸的羧基与酶蛋白中赖氨酸残基的ε-氨基以酰胺键相连而紧密结合的。功能部位是尿素环上的一个 N 原子，它能与 COO^- 结合，然后再去羧化底物。生物素对糖、脂肪、蛋白质和核酸的代谢有密切关系，因为在这些物质的代谢过程中均有 CO_2 参与反应。

生物素在动植物界分布很广，如肝、肾、蛋黄、酵母、蔬菜、谷类中都有。在微生物的培养中，一般利用玉米浆或酵母膏就可满足微生物对生物素的需要。

六、泛酸和辅酶 A

泛酸旧称维生素 B_3，又称遍多酸。由于在自然界分布广，因而得名。泛酸为某些微生物生长所必需，人类肠道中细菌可以合成，一般很少有缺乏症。

泛酸是由二羟基二甲基丁酸和 β-丙氨酸两部分组成的：

```
        CH3 OH  O
        |   |   ‖  ¦
CH2—C——CH—C—¦—NHCH2CH2COOH
|       |        ¦
OH     CH3
二羟二甲丁酸残基          β-丙氨酸残基
```

泛酸是辅酶 A 和 4′-磷酸泛酰巯基乙胺的组成成分。辅酶 A 简写为 HSCoA，是由等分子的泛酸、腺嘌呤、核糖、氨基乙硫醇和三分子磷酸组成的：

```
              泛酸残基
          H3C  OH  O  H               O ¦H
          |    |   ‖  |               ‖ ¦|
O—CH2—C—CH—C—N—CH2CH2C¦N—CH2CH2—SH
|     4'  3'  2'  1'                ¦ 氨基乙硫醇残基
|        H3C
- - -|- - - -
焦   HO—P=O
磷      |                磷酸残基
酸      O                  OH
残      |                  |                 H2N—C=N
基   HO—P=O            HO—P=O                  |   |
        |              - -|- -             N—C   CH
- - -|- - - -             O    OH       HC      ‖   ‖
        |                 |    |          ¦    N—C—N
     O—CH2— CH—CH—CH—CH —¦—
              └———O———┘       ¦
               核糖残基           腺嘌呤残基
```

4′-磷酸泛酰巯基乙胺是脂酰载体蛋白(ACP)的辅基，结构式见第十二章，它与脂肪酸的合成密切相关。

辅酶 A 主要起传递酰基的作用，来回接受和放出酰基。它也与酰化作用密切相关，是各种酰化反应的辅酶，携带酰基的部位在 —SH 基上，故常以 HSCoA 表示。如携带乙酰基时形成$CH_3CO \sim SCoA$，称为乙酰辅酶 A，交出乙酰基后，又恢复为 HSCoA。

泛酸对糖、脂类和蛋白质的代谢具有非常重要的影响。例如糖代谢中，丙酮酸氧化脱羧后，必须形成乙酰辅酶 A 才能进入三羧酸循环；脂类代谢中，脂肪酸必须酰化成脂酰辅酶 A 才能进行 β-氧化；蛋白质代谢中，有不少氨基酸变成相应的酮酸后，必须有辅酶 A 参与其后的代谢过程。在这里，含有泛酸的辅酶 A 具有关键作用。近年来发现，泛酸的另一种活性形式 4′-磷酸泛酰巯基乙胺与脂肪酸的合成也有密切关系。此外，辅酶 A 还参与体内一些重要物质如乙酰胆碱、胆固醇、卟啉、甾类激素和肝糖元等的合成，并能调节血浆脂蛋白和胆固醇的含量。

辅酶 A 对厌食、乏力等症状有明显的改善效果，故被广泛用作各种疾病的重要辅助药物，如白细胞减少症、原发性血小板减少性紫癜、功能性低热、脂肪肝、各种肝炎、冠状动脉硬

化、心肌梗塞等症。

泛酸在酵母、肝、肾、蛋、小麦、米糠、花生、豌豆中含量丰富，在蜂皇浆中含量最多。

七、叶酸和辅酶 F

叶酸为某些微生物生长所必需，人体虽然自己不能合成，但因肠道菌可合成，故一般不易患缺乏症。叶酸在植物的绿叶中大量存在，肝脏、酵母中含量也丰富。

叶酸由 2-氨基-4-羟基-6-甲基蝶啶(一种蝶呤)、对氨基苯甲酸(PABA)和 L-谷氨酸三部分组成，又称蝶酰谷氨酸(PGA)。

H_2N—C, N, C, N, CH, N, C, C—CH_2—NH—C$_6$H$_4$—C(=O)—NH—CH(COOH)—$(CH_2)_2$—COOH；OH

2-氨基-4 羟基-6 甲基蝶啶残基　　对氨基苯甲酸(PABA)残基　　L-谷氨酸残基

蝶酸

蝶酰谷氨酸

在体内叶酸加氢还原成为二氢叶酸和四氢叶酸，反应过程需要 NADPH 和维生素 C。四氢叶酸又称辅酶 F，简称 CoF 或 THFA。CoF 是转移一碳物(C_1)如甲酰基、羟甲基等的辅酶，N-5 和 N-10 是转 C_1 的反应位置，例如在丝氨酸转变为甘氨酸的过程中：

CH_2—CH—COOH(OH, NH_2) + THFA $\xrightarrow[\text{磷酸吡哆醛}]{\text{丝氨酸转羟甲基酶}}$ CH_2—COOH(NH_2) + H_2O + N^5, N^{10}-亚甲基四氢叶酸

丝氨酸　　甘氨酸　　N^5, N^{10}-亚甲基四氢叶酸

$\xrightarrow{NADP^+}$ N^5, N^{10}-甲川四氢叶酸 $\xrightarrow{H_2O}$ N^{10}-甲酰四氢叶酸

N^5, N^{10}-甲川四氢叶酸　　N^{10}-甲酰四氢叶酸

在合成许多重要物质例如嘌呤、嘧啶、核苷酸、丝氨酸、甲硫氨酸等过程中，N^{10}-甲酰四氢叶酸是 C_1 的来源。N^{10}-甲酰四氢叶酸可从 N^5, N^{10}-甲川四氢叶酸水解产生，也可以从甲酸与四氢叶酸直接反应生成。甲酸和四氢叶酸也可反应生成 N^5-甲酰四氢叶酸，后者称为嗜橙菌因子。现在了解到 N^5-甲酰四氢叶酸必需转变成 N^{10}-甲酰四氢叶酸才能起转甲酰基的作用。

$$HCOOH + \text{四氢叶酸} \xrightleftharpoons{\text{甲酰四氢叶酸合成酶}} N^{10}\text{-甲酰四氢叶酸}$$

四氢叶酸　　　　N^{10}- 甲酰四氢叶酸

叶酸结构中有与磺胺药结构相类似的对氨基苯甲酸(PABA)，故磺胺药在细菌合成叶酸的反应中起竞争性抑制作用，从而抑制细菌的生长、繁殖。磺胺增效剂 TMP 又称甲氧苄氨嘧啶，结构式为：

$$H_2N\text{-(嘧啶环, }NH_2\text{)}-CH_2-\text{(苯环, }OCH_3, OCH_3, OCH_3\text{)}$$

它能抑制二氢叶酸还原酶，使二氢叶酸不能还原成四氢叶酸，所以磺胺药和 TMP 合用可双重阻断细菌合成四氢叶酸，从而大大增强抑菌效果。

叶酸参与核酸的合成，是骨髓巨红细胞、白细胞等细胞成熟和分裂所必需的物质。临床用于治疗巨红细胞贫血、血小板减少等症，常与维生素 C、维生素 B_6、维生素 B_{12} 合用。

八、维 生 素 B_{12}

维生素 B_{12} 亦称氰钴维生素，其化学结构非常复杂，含有一个金属离子钴，后者被一个与卟啉相似的咕啉环平面所围绕。在自然界中，B_{12} 通常以辅酶形式存在。(5, 6-二甲基苯基咪唑)钴胺酰胺(见图 7-3)和甲基钴胺，是 B_{12} 的两种辅酶形式。在咕啉环平面上方，钴离子与 5, 6-二甲基苯基咪唑的 N-3 相连，在平面下方与 5′-脱氧腺苷的 C-5′ 相连。其中的 5′-脱氧腺苷部分很易为 CN^- 或 OH^- 所取代。一般应用的维生素 B_{12}，和钴离子相连的是 CN^-，称为氰钴胺，是红色结晶。多种具有 B_{12} 活力的化合物已从动物和微生物中分离出来，它们只是在和钴离子相连的阴离子上有所不同，如氯离子、硫酸根等。

甲基钴胺参与甲基的形成和转移，与胆碱、甲硫氨酸等的生物合成关系密切。胆碱是乙酰胆碱和卵磷脂的组成成分，因此 B_{12} 对神经功能具有特殊的重要性。目前对 B_{12} 的作用原理尚不清楚。据报道，钴离子可能是起转甲基作用的部位。下面是高半胱氨酸甲基化成甲硫氨酸的反应中 B_{12} 作用原理的示意图。

$$CH_3\text{-}Co^{+++} + RSH \longrightarrow H\text{-}Co^{+} + RS\text{—}CH_3$$

B_{12} 也是某些变位酶的辅酶。它是甲基丙二酸单酰辅酶 A 变位酶和谷氨酸变位酶的辅酶。据报道，其功能部位可能是在脱氧腺苷的 C-5′ 上。图 7-4示意 B_{12} 在甲基丙二酸单酰辅酶 A 变位酶反应中的作用原理。A 代表腺嘌呤、[Co^+]代表 B_{12} 的辅酶形式中除 5′- 脱氧腺苷部分以外的其余部分。

在缺乏维生素 B_{12} 的恶性贫血患者的尿中有大量甲基丙二酸单酰辅酶 A。

核糖—3—P 残基

CH_2OH

5,6—二甲基苯基咪唑残基

H_3C—CH 1-氨基-2-丙醇残基

丙酸残基

$CONH_2$

5′—脱氧腺苷残基

图 7-3 (5, 6-二甲基苯基咪唑)钴胺酰胺辅酶

钴胺酰胺

甲基丙二酸单酰 CoA

琥珀酰 CoA

图 7-4 B_{12} 在甲基丙二酸单酰辅酶 A 变位酶反应中作用原理的示意图

此外，维生素 B_{12} 对红细胞的成熟很重要，可能和 B_{12} 参与 DNA 的合成有关。缺少 B_{12} 时，巨红细胞的 DNA 合成受到障碍，不能进行细胞分裂，因而不能分化成红细胞。

肝、肾、瘦肉、鱼及蛋类食物中的维生素 B_{12} 含量较高。放线菌、人和动物的肠道细菌均能合成，所以一般情况下不会缺少 B_{12}。但 B_{12} 的吸收需要一种由胃壁细胞分泌的糖蛋白，称为内因子，它和 B_{12} 结合后才能被小肠吸收。恶性贫血患者的胃液中常不含这种糖蛋白，故 B_{12} 不能被吸收，治疗时须注射给药。

维生素 B_{12} 临床用于恶性贫血及其他疾患如神经炎、神经萎缩、烟毒性弱视等症。B_{12} 与叶酸合用可治疗营养性大红细胞性贫血。B_{12} 也用于肝炎、肝硬化，但效果未定。

维生素 B_{12} 分子的结构很复杂，是人工合成最为费力的一种维生素。经过近十年的努力，终于在七十年代获得成功。它的合成对临床应用无多大价值，因为可以从发酵法取得廉价的天然 B_{12}，但是对发展化学基础理论却具有深远意义。通过对 B_{12} 的有机合成，发现了重要理论——分子轨道对称，这对有机合成的研究和生产具有积极的指导作用。

九、维生素 C

维生素 C 又称抗坏血酸，能防治坏血症。

抗坏血酸是 L-型己糖的衍生物，故为 L-抗坏血酸。它是一种不饱和的多羟化合物，以内酯形式存在，在 2 位与 3 位碳原子之间烯醇羟基上的氢可游离成 H^+，故具酸性。抗坏血酸是一种强还原剂，易被弱氧化剂如 2，6-二氯酚靛酚氧化脱氢成脱氢抗坏血酸，故有氧化型和还原型二种形式存在。在体内参与氧化还原反应，二者可相互转化，来回地接受和放出氢，起传递氢的作用。氧化型若继续水解和氧化，则完全失去维生素 C 的活性。脱氢抗坏血酸易于水解，使内酯环破裂生成二酮基古洛酸，无维生素 C 的活性，在体内不能逆转。继续氧化则生成草酸和 L-赤藓糖酸。

```
 O                     O                        O
  \                     \                        \
   C ─┐                  C ─┐                     C─OH
   |  |                  |  |                     |
HO─C  |     -2H       O═C  |       H2O         O═C            [O]      COOH        COOH
   ‖  O  ⇌               |  O  ───────→           |         ───────→   |     +     |
HO─C  |     +2H       O═C  |                   O═C                     COOH       HCOH
   |  |                  |  |                     |                                |
  HC ─┘                 HC ─┘                    HC─OH                           HOCH
   |                     |                        |                                |
HO─CH                 HO─CH                    HO─CH                             CH2OH
   |                     |                        |
  CH2OH                 CH2OH                    CH2OH
```

抗坏血酸(还原型)　脱氢抗坏血酸(氧化型)　二酮基古洛酸　草酸　L-赤藓糖酸

在植物中，维生素 C、谷胱甘肽（简称 GSSG）和 NADP$^+$ 的氧化还原反应相偶联，是一种呼吸系统的基础。

```
M·2H ╲  ╱ NADP+  ╲  ╱ 2GSH ╲  ╱ 脱氢C ╲  ╱ H2O
      ╳           ╳         ╳         ╳
M   ╱  ╲ NADPH   ╱  ╲ GSSG ╱  ╲ C     ╱  ╲ O2
         +H+
```

维生素 C 可能是二氢叶酸还原酶和二羟苯乙胺-β-羟化酶的辅酶，所以它与辅酶 F 和肾上腺素的形成有重要关系。

抗坏血酸和脱氢抗坏血酸均具有抗毒作用，因它们能保护巯基酶中的 —SH 使不被氧

化，常用于防治职业中毒如铅、汞、砷、苯的慢性中毒。

由于维生素C在体内能促进胶原蛋白和粘多糖的合成，故能促使伤口愈合、骨质钙化、增加微血管致密性、减低微血管通透性及脆性。缺乏维生素C时，细胞间质中的粘多糖合成受到阻碍，正常胶态不能维持，导致微血管壁通透性增加，脆性增强，血管易破裂出血，即产生所谓的坏血病。坏血病最主要的特征是普遍出血，严重时，肌肉、皮下组织、关节、骨膜下等处均有出血现象，甚至内脏出血而死亡。维生素C还可促进抗体生成和白细胞对细菌的吞噬能力，从而增强机体的抵抗力。也能促进机体对铁的吸收。

临床用于坏血病、各种急慢性传染病、紫斑病、贫血、外伤、骨折等。近年来有人认为维生素C可防治感冒、癌肿和冠心病等，正在进一步探索。通过动物实验和对长期服用大剂量维生素C的人进行观察，发现过量维生素C可能引起疲乏、呕吐、荨麻疹、腹绞痛、胆固醇升高、尿结石、高血糖、死产等症，宜引起注意。

固体的维生素C较稳定，但长期暴露于空气和潮湿中会产生有害物质。维生素C易溶于水，在水溶液中极易被空气氧化。加热易被破坏，在中性或碱性溶液中尤甚。遇光、微量金属离子如Cu^{++}、Fe^{++}都可促进维生素C的破坏。在制桔汁水果罐头时，往往充氮或CO_2以排氧，可减少维生素C的破坏。

微生物可以自己合成维生素C，大小白鼠也可合成。人和灵长类动物、豚鼠自身则不能合成，必需靠食物供给。维生素C广泛存在于水果、蔬菜中，柑桔、枣、山楂、番茄、辣椒、松针和新生幼苗中含量也很丰富。

十、"维生素P"

"维生素P"又称抗通透性维生素。最先从柠檬中提出，所以也称柠檬素。能够纠正毛细血管过高的通透性和脆性。

由于"维生素P"的作用是属于药理性的，一般认为将其称为维生素不够妥当，因此在命名时都把维生素P的名称加上引号即"维生素P"，或者干脆不称为维生素，而称之为生物活性黄酮苷类物质。

"维生素P"是一些属于黄酮苷类的衍生物，有芸香苷（或称路丁）、桔皮苷等。

芸香苷　　　　桔皮苷

临床用于防治血管性紫癜、视网膜出血、高血压脑病等。常用的有路丁和维生素C的混合制剂复方路丁片。

上面所述的除"维生素P"以外的十四种维生素都是人类所必需的维生素。但实际上维生素所涉及的范围相当广泛，如对氨基苯甲酸、环己六醇（也称肌醇）和胆碱，对某些微生物来讲也都是维生素，在其他生物中也有类似的情况，这里就不作介绍了。

表7-1 维生素的主要功能及用途

名称	主要功能	辅酶、辅基或其他活性形式	临床用途	富含来源
A	1. 促进粘多糖合成 2. 维持上皮组织正常功能 3. 组成视色素 4. 促进骨的形成和生长	11-顺视黄醛	用于夜盲症等A缺乏症，也试用于抗癌	鱼肝、蛋等。胡萝卜、番茄、菠菜等富含其前体胡萝卜素
D	促进成骨作用	1, 25-$(OH)_2D_3$	用于佝偻病、软骨病等D缺乏症	鱼肝、蛋等。人皮肤富含D_3原，经紫外线照射后变为D_3
E	1. 抗氧化作用，保护生物膜 2. 维持肌肉正常功能 3. 维持生殖机能		用于进行性肌营养不良症、心脏病等	麦胚油、大豆油、玉米油等
K	1. 促进凝血酶原和促凝血球蛋白等凝血因子的合成 2. 解痉止痛作用		用于K缺乏所致的出血症、胆道蛔虫胆绞痛等	肝、鱼、肉、苜蓿、青菜、菠菜、肠道菌等
硫辛酸	1. 转酰基作用 2. 转氢作用	L<S-S (环状二硫)	试用于肝炎、肝昏迷等	肝、酵母等
B_1	1. α-酮酸氧化脱羧作用 2. 转酰基作用	TPP	用于脚气病、食欲不振等	米糠、豆类、肝、肾、心等
B_2	递氢作用	FMN、FAD	用于口角炎等	米糠、酵母、肝、蛋黄等
烟酰胺	递氢作用	NAD^+、$NADP^+$	用于糙皮病等	米糠、肝、肾、蛋黄、酵母等
烟酸	1. 扩血管作用 2. 降血脂		用于末梢血管痉挛、高脂血症等	同上
B_6	1. 参与氨基酸的转氨基、脱羧基作用 2. 参与转C_1反应 3. 参与多烯脂肪酸的代谢	P—C(H)=O P—CH_2NH_2	用于妊娠呕吐、异烟肼中毒、白细胞减少症等	米糠、大豆、蛋黄、肉、鱼、酵母、蜂皇浆等
生物素	与CO_2固定有关		用于鳞屑状皮炎、倦怠等	肝、肾、蔬菜、谷类、酵母、肠道菌等
泛酸	参与转酰基作用	HSCoA 4′-磷酸泛酰巯基乙胺	用于白细胞减少症、功能性低热等各种疾病，作为辅助药物	米糠、小麦、花生、豌豆、蜂皇浆、肠道菌等
叶酸	转C_1物作用	CoF	用于巨细胞贫血等	肝、绿叶蔬菜、酵母、肠道菌等
B_{12}	1. 促进甲基形成、转移 2. 参与某些变位反应；促进DNA合成 3. 促进血细胞成熟；维持神经组织正常功能	甲基钴胺 钴胺酰胺	用于恶性贫血、神经疾患等	肝、肉、鱼、肠道菌等
C	1. 氧化还原作用 2. 促进细胞间质形成	V_c、$2HV_c$	用于坏血病、贫血、感冒、外伤、职业中毒等，也试用于抗癌	青辣椒、山楂、鲜枣、番茄、柑桔、卷心菜、苋菜、菠菜等

人们对维生素的认识是一步一步地由低级到高级，不断深化的。近年来又发现维生素的一些新的功能，但目前对维生素的认识还很肤浅，还存在许多不清楚的地方。至今对一些维生素的缺乏症状或中毒症状还不能用已知的代谢功能来加以解释。例如维生素A能促进粘多糖合成，这可能与它的维持上皮组织正常结构的功能有关，缺乏A时皮肤会变粗糙，但为什么A过多时也会出现皮肤干燥的症状？维生素D有促进成骨的作用，但为什么D过多时会有骨骼变脆及异位钙化？ B_1 的功能部位是在其分子内的噻唑环上，而新 B_1 不含有此功能部位，但为什么仍有疗效？口角炎是缺乏 B_2 的主要症状，这和 B_2 的传递氢的功能有什么联系？维生素PP也有传递氢的功能，但为什么缺乏后不产生口角炎，而出现蜀黍红斑症？维生素K促进肝脏合成凝血因子的具体过程是怎样的？维生素K为什么能够延缓皮质激素在肝脏中的分解？多烯脂肪酸能降低血脂而维生素 B_6 缺乏会引起动脉硬化，为什么两者似乎具有同样的功能？维生素A为什么能够抗癌？维生素K为什么能够解痉止痛？维生素C在胆固醇代谢中起什么作用？维生素K、E在氧化磷酸化过程中起重要作用的机理是怎样的？……等等。这些问题都还停留在表面认识上，需要我们进一步研究。

第八章 激 素

激素是生物体内的一种调节物质。激素的作用主要是通过调节生化反应的速度而达到整合作用。所谓整合作用就是协调机体内各部分间相互关系的作用。生物个体由亿万个以上的细胞组成，机体的各个部分分别执行不同的生理功能。但是什么因素使它们一方面有所分工而执行不同的生理功能，另一方面又互相合作而成为一个有机的整体？当前大量实验证明，是激素在这里起着重要的整合作用。

动物、昆虫、植物在形态结构方面差别很大，但它们所产生的激素却有共同的特点。它们都是生物体内产生的、量少而效高、通过体液运送到作用部位（靶部位）的一类调节物质。动物的生长、繁殖、代谢，昆虫的生长、发育、变态，植物的发芽、生根、开花等生理现象都受到激素的调节和控制。

激素在实践中的应用非常广泛，如口服避孕药是人工合成的类固醇激素的衍生物，又如细胞分裂素与植物生长素合用能有效地进行单倍体育种，可尽快选育良种提高产量。因此，激素的研究具有重要的实践意义。

第一节 动物激素

一、一般介绍

动物激素是动物体内所产生的一种量微而效高的调节代谢反应速度的化学物质。这些物质或贮存起来，或分泌入血再运送至所作用的部位即靶部位，发挥其生理作用。在高等动物中，激素的作用和神经系统密切配合而具有高度整合的形式。

过去认为机体内的两大调节系统神经系统和内分泌（体液）系统是截然分开和互不相关的，现在逐渐了解到这两个系统是紧密联系和不可分割的。近年来通过对垂体后叶（垂体神经叶）及下丘脑的研究，了解到下丘脑的神经细胞具有内分泌功能，它们产生两类激素。一类是由丘脑下部神经细胞分泌后经垂体门脉系统作用于垂体前叶，影响垂体前叶分泌激素的功能，如生长激素释放激素（GRH）、促肾上腺皮质激素释放激素（CRH）、促甲状腺素释放激素（TRH）、促性腺激素释放激素（FRH 和 LRH）等。另一类是由丘脑下部神经细胞分泌后，经轴突流至垂体后叶而贮存起来，再从后叶释放入血，它们是抗利尿激素（加压素）和催产素。

随着激素的分离、提纯、化学结构的确定以及人工合成等方面技术的发展，下丘脑所分泌的激素的研究也不断深入，神经系统和内分泌系统已逐步统一形成一个研究体系，称为神经内分泌学，目前神经内分泌学是内分泌学研究中最活跃的领域。

在正常情况下机体内的激素处于高度的平衡状态。当人体某一激素分泌过多或缺乏时，机体内部的激素平衡遭到破坏因而造成病态。在医疗上激素可治疗因内分泌失调而引起的

疾病，并对某些疾病有治疗和急救的价值。在使用激素时，应取谨慎态度，因为若使用不当或滥用，会产生有害的影响。

动物激素一般可用于人类，如胰岛素、甲状腺素、促肾上腺皮质激素等。从牛、猪、羊的胰脏制备的胰岛素常用于治疗糖尿病。多肽和蛋白质类激素的应用具有种属特异性问题，如牛和羊的生长素对人无效，因化学结构差异较大；又如在临床实践的长期应用中，发现用动物胰岛素治疗糖尿病有效果逐渐下降的病例，这是由于不同种属胰岛素在结构上略有差异而引起抗体产生的结果。因此研究激素的结构和功能，合成其活性部分或修饰动物激素的结构，是一个重要的研究方向。

激素作为药物，除了从动物脏器中提取以外，还可人工合成。例如应用于临床的皮质激素类药物和应用于避孕的性激素类药物都是人工合成的。

动物激素的化学结构大致可分为两大类。一大类为含氮的激素，其中包括：(1)属于简单的氨基酸类似物，如甲状腺素、肾上腺素等。(2)属于多肽或蛋白质，如生长激素释放激素为十肽、催产素为八肽、胰岛素为蛋白质。另一大类为类固醇激素，如性激素、肾上腺皮质激素。近年来发现的其作用和激素相似而化学本质是脂肪酸的前列腺素，是否属于激素，目前尚有不同看法，有人认为它是一种新的激素，也有人认为它只是一种类似激素的物质。

二、几种重要的动物激素

1. 甲状腺激素

甲状腺所分泌的激素主要是甲状腺素和少量具有较强甲状腺素作用的三碘甲腺原氨酸。后者的作用约为甲状腺素作用的5～10倍。二者的结构式如下：

甲状腺素(3, 5, 3′, 5′-四碘甲腺原氨酸)　　　三碘甲腺原氨酸(3, 5, 3′-三碘甲腺原氨酸)

天然的具有生理功能的甲状腺激素均属L型。

(1) 合成途径　酪氨酸和无机碘是生物合成甲状腺素的原料。甲状腺能摄取并浓集血液中的无机碘，随即被过氧化氢所氧化，生成具有高度活性的“活性碘”——[I]，也可能是I^+，这是合成甲状腺素的过程中关键性的一步。此反应被甲状腺过氧化物酶所催化，某些抗甲状腺药物如硫氧嘧啶类药物，在临床上常用来治疗甲状腺机能亢进，就是由于它们能抑制这种过氧化物酶。“活性碘”能迅速与酪氨酸结合生成3-单碘酪氨酸和3, 5-二碘酪氨酸，二分子3, 5-二碘酪氨酸可缩合生成甲状腺素。3-单碘酪氨酸和3, 5-二碘酪氨酸可缩合生成具有很强甲状腺素作用的3, 5, 3′-三碘甲腺原氨酸(简称T_3)，然后再碘化成甲状腺素(简称T_4)。两个3-单碘酪氨酸分子可缩合生成具有较弱甲状腺素作用的3, 3′-二碘甲腺原氨酸，然后再碘化成极弱甲状腺素作用的3, 3′, 5′-三碘甲腺原氨酸。图8-1是甲状腺激素在体内的合成途径。

甲状腺浓集碘的能力是随甲状腺的机能状态而改变的。临床上常用口服具有放射性的碘化钠($Na^{131}I$)，于一定时间后测定甲状腺上的碘放射性，计算其吸收^{131}I的吸碘率，以诊

$$2I^- \xrightarrow[\text{过氧化物酶}]{H_2O_2} 2[I] + 2e$$

$$2[I] \rightarrow I_2$$

[I] + 酪氨酸 → 3-单碘酪氨酸

2[I] + 酪氨酸 → 3,5-二碘酪氨酸

2 3-单碘酪氨酸 → 3,3'-二碘甲腺原氨酸 + 丙氨酸

3,3'-二碘甲腺原氨酸 →(碘化) 3,3',5'-三碘甲腺原氨酸

3-单碘酪氨酸 + 3,5-二碘酪氨酸 → T_3 →(碘化) T_4

2 3,5-二碘酪氨酸 → T_4 + 丙氨酸

图 8-1　甲状腺激素生物合成途径

断甲状腺的功能状态。正常人甲状腺的吸收 ^{131}I 的吸碘率在服药后 3 小时为 5.7～24.5%。甲状腺机能亢进者吸碘率增高，甲状腺机能减退者吸碘率减少。成人平均每天需要的碘量约为 25 微克，若长期吃缺碘的食物，就将影响甲状腺素的合成而患地方性甲状腺肿病(俗称大脖子病)。

甲状腺激素与甲状腺球蛋白结合在一起，储存于滤泡腔胶质中。当需要时，又回到细胞

内，经蛋白水解酶作用，释出甲状腺激素，分泌入附近的毛细血管中与血浆蛋白质结合而运送至全身发挥其作用。

血浆蛋白质所结合的碘绝大部分是属于甲状腺素的，临床上常测定蛋白结合碘(PBI)来了解甲状腺的功能，正常人的PBI值为3～7微克/100毫升血清。

(2) 生理功能　甲状腺素的生理功能极为广泛。它可以促进体内各种物质的新陈代谢，例如：①促进糖的吸收和氧化，促进糖元分解和糖元异生；②促进脂肪动用和磷脂、胆固醇的合成；③促进蛋白质合成；④促进水的排泄；⑤促进骨的钙化；⑥促进核酸合成等。甲状腺素如此广泛的生理功能，是由其主要生理功能所决定的。甲状腺素的主要生理功能是促进能量代谢即能促进能量的生成。由于甲状腺素作用于线粒体，促进了细胞的氧化作用，使糖、脂肪的氧化利用加强，氧化磷酸化过程加速，所以生成ATP的量增加。而ATP的增加，可促进各种代谢过程并为体内合成蛋白质等物质提供足够的能量。但是，当甲状腺激素在体内的量过多时，不仅不能促进蛋白质的合成，反而促进了蛋白质的分解。因为大量甲状腺素具有去偶联作用，使物质氧化过程中所产生的能量不能转变成ATP，却变成热能而散失。在这种情况下体内缺乏可利用的能量ATP，蛋白质、糖元等的合成受到影响，而氧化作用依然旺盛，糖元、脂肪乃至蛋白质等仍不断分解，耗氧增加。甲状腺机能亢进的病人，正因为这一缘故，人体逐渐消耗变瘦，其基础代谢率常高于正常10%以上。

甲状腺素能促进蛋白质的合成和骨的钙化，因此对生长和发育有很大影响，如幼年甲状腺机能减退的患者，不能正常发育，身材矮小，思维呆滞，称为呆小病。成人则出现粘液性水肿，智力减退，基础代谢率常在−20%以下。

甲状腺机能亢进者，血胆固醇含量下降；而甲状腺机能减退者，血胆固醇含量往往升高，大量甲状腺素虽可加速胆固醇合成，但由于后者转化为胆酸从胆汁中排出增多及利用增多，故甲亢病人血胆固醇偏低。

(3) 调节因素　甲状腺素的合成和分泌主要受下列三种因素的调节。

中枢神经系统：外界刺激如寒冷刺激可通过神经系统促使下丘脑分泌促甲状腺素释放激素(TRH)，TRH再促进垂体前叶分泌促甲状腺素(TSH)而引起甲状腺素分泌增加。例如甲状腺机能亢进患者常有剧烈精神扰动历史，由于精神因素使TRH和TSH分泌过多而引起本病。

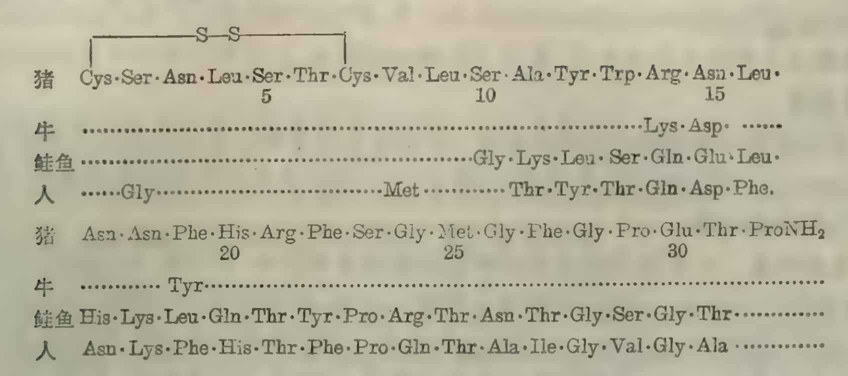
反馈机制：当甲状腺激素不足时，对下丘脑及垂体的反馈抑制作用减弱使促甲状腺素释放激素(TRH)和促甲状腺素(TSH)分泌增多，从而促使甲状腺分泌甲状腺素，提高血中甲状腺素的含量。当血中甲状腺素的浓度升高时，则对下丘脑及垂体的反馈抑制作用增强，引起相反的结果。这种下丘脑-垂体-甲状腺之间的反馈作用是调节体内甲状腺素动态平衡的重要因素。

血碘浓度：血碘浓度高，可抑制甲状腺素的合成和分泌，这是通过抑制TRH和TSH而引起的。故临床上处理甲状腺机能亢进患者时，有时反而给予口服碘剂，不仅可减少甲状腺素的分泌，而且能使肿大的甲状腺缩小。

2. 降钙素(简称CT)

降钙素是甲状腺内的滤泡旁细胞(C细胞)所分泌的多肽激素，是一种由32个氨基酸所组成的单链多肽。它是近年来发现的新激素之一，目前已从多种脊椎动物的甲状腺中得到纯品，并已人工合成和应用。不同来源的降钙素的氨基酸排列顺序有些差异。下面是不同

动物来源的降钙素的氨基酸排列顺序比较:



S—S (1—7)

猪 Cys·Ser·Asn·Leu·Ser·Thr·Cys·Val·Leu·Ser·Ala·Tyr·Trp·Arg·Asn·Leu·
(5　10　15)

牛 ··Lys·Asp· ······

鲑鱼 ··Gly·Lys·Leu·Ser·Gln·Glu·Leu·

人 ······Gly·································Met ············Thr·Tyr·Thr·Gln·Asp·Phe.

猪 Asn·Asn·Phe·His·Arg·Phe·Ser·Gly·Met·Gly·Phe·Gly·Pro·Glu·Thr·ProNH_2
(20　25　30)

牛 ············ Tyr···

鲑鱼 His·Lys·Leu·Gln·Thr·Tyr·Pro·Arg·Thr·Asn·Thr·Gly·Ser·Gly·Thr·············

人 Asn·Lys·Phe·His·Thr·Phe·Pro·Gln·Thr·Ala·Ile·Gly·Val·Gly·Ala ·············

人、鲑鱼、牛、猪的降钙素均由32个氨基酸组成，它们的N端皆为半胱氨酸，在N端的1和7位半胱氨酸间有一个二硫键，C端皆为脯氨酰胺。从鲑鱼分离出来的降钙素对人的降钙作用比从其他哺乳动物分离出来的降钙素要高20～50倍。

降钙素的主要功能是降低血钙。由于降钙素有抑制破骨细胞活力的作用，所以能抑制骨盐的溶解吸收，从而阻止钙从骨中释出。血钙高可促使降钙素分泌增加，而使血钙降低；血钙低可促使甲状旁腺素分泌增加而使血钙升高。两者互相制约，共同维持血钙平衡。降钙素的靶部位除骨外，还有肾。它具有使肾排磷增多而降低血磷的作用。

对溶骨性病变患者注射降钙素后，降血钙的作用尤其明显。在甲状腺髓细胞癌病人血中降钙素含量特别高。动物实验证明，降钙素可防止大剂量维生素A造成的骨质疏松。临床用于骨质疏松症、甲状旁腺机能亢进等，并可用于诊断溶骨性病变和甲状腺的髓细胞癌。

3. 甲状旁腺素(简称PTH)

甲状旁腺素是由甲状旁腺产生和分泌的一种蛋白激素。牛的甲状旁腺素是一条由84个氨基酸所组成的单链多肽。通过结构和功能的研究，发现此激素分子N端的33或34个氨基酸的片段与功能密切相关。也就是说，只需要这部分的氨基酸片段，就可以充分发挥这种激素的生理活性。现将人、牛、猪PTH的N端部分结构(1～34)作比较简示于下，在牛和猪PTH的这个片段中与人相异的氨基酸均以黑体字来表明。

人PTH

H_2N–Ser·Val·Ser·Glu·Ile·Gln·Leu·Met·His·Asn·Leu·Gly·Lys·His·Leu·Asn·Ser·Met·Glu·Arg·
(1　5　10　15　20)

Val·Gln·Trp·Leu·Arg·Lys·Lys·Lys·Gln·Leu·Val·His·Asn·Phe–R
(25　30　34)

牛PTH

H_2N–**Ala**·Val·Ser·Glu·Ile·Gln·**Phe**·Met·His·Asn·Leu·Gly·Lys·His·Leu·**Ser**·Ser·Met·Glu·Arg·
(1　5　10　15　20)

Val·**Glu**·Trp·Leu·Arg·Lys·Lys·**Leu**·Gln·**Asp**·Val·His·Asn·Phe–R
(25　30　34)

猪PTH

H_2N–Ser·Val·Ser·Glu·Ile·Gln·Leu·Met·His·Asn·Leu·Gly·Lys·His·Leu·**Ser**·Ser·**Leu**·Glu·Arg·
(1　5　10　15　20)

Val·**Glu**·Trp·Leu·Arg·Lys·Lys·**Leu**·Gln·**Asp**·Val·His·Asn·Phe–R
(25　30　34)

甲状旁腺素的主要功能是升高血钙和降低血磷，维持血钙和血磷的相对恒定水平。它可促进破骨细胞的活力和骨盐的溶解吸收，使骨骼内钙、磷释放到血液内使血钙和血磷升

高。同时加强肾脏对钙的回吸收和抑制肾脏对磷的回吸收，而使血钙升高、血磷下降。由于磷排出的速度超过因溶骨而使血磷升高的速度，因此总的结果是升高血钙和降低血磷。此外，它还能和维生素D起协同作用，促进小肠对钙的吸收。临床用于甲状旁腺功能不足等症。

4. 胰岛素

胰岛素是胰腺中胰岛的β细胞分泌的一种由51个氨基酸所组成的蛋白质激素(图4-5)。近年来在血液中发现其前体胰岛素原(见图4-6)，后者经蛋白水解酶的作用脱下C链而成为有生理活性的胰岛素。

(1) *生理功能* 主要是促进血糖的利用和促进合成代谢。它对糖、脂肪和蛋白质代谢的影响，包括下列几个方面：①促进血糖氧化和糖元合成，抑制葡糖异生和糖元分解。②促进脂肪合成，加速血糖转变成脂肪，抑制脂肪的动用。③促进蛋白质合成，抑制氨基酸转变成糖。④促进核酸合成。以上这些作用均有利于组织、细胞的再生和修复，因此，临床上除了用胰岛素治疗糖尿病外，还常用胰岛素和葡萄糖作为能量合剂的主要成分，治疗某些有组织、细胞损伤并伴有糖利用障碍的疾病，如慢性肝炎、肝硬化及心肌损害等。

正常人体血液中葡萄糖的浓度维持在一定范围内(80～100毫克/100毫升血清)。当体内胰岛素受体减少或胰岛素不足时，则产生高血糖现象，血糖浓度超过130毫克/100毫升血清称为高血糖。如血糖浓度超过一定限度(一般为160～180毫克/100毫升血清)，则尿中可出现葡萄糖，这种疾病叫做糖尿病。由于水分随糖大量排出，所以糖尿病患者产生多尿症状。同时，胰岛素缺乏后，机体丧失了主要的能量来源，只能动用体内贮存的脂肪甚至蛋白质，以分解供能。由于脂肪被大量动用，肝脏中脂肪酸的分解增多，形成大量的乙酰辅酶A，在肝中产生过多酮体，使血中酮体升高。糖尿病患者对葡萄糖的利用率不足，于是体内C_3物的浓度较低，从C_3物羧化生成C_4物也较少，导致乙酰辅酶A不能进入三羧酸循环彻底氧化，这也是酮体增多的原因。

(2) *作用原理* 过去认为胰岛素能够增加细胞膜对葡萄糖的通透性，但这种看法是不全面的。目前认为胰岛素的作用可能是通过"第二信使"cAMP与蛋白激酶结合来完成的。胰岛素和一般蛋白、多肽激素不同之处在于它不是使细胞内的cAMP增加，而是使cAMP的含量减少。一般认为cAMP减少可使磷酸化酶活性下降而减少糖元分解，可激活葡糖激酶等一些酶的活性而加速血糖氧化，可使脂酶活性下降而减少脂解，可激活糖元合成酶而加速糖元合成，总的结果是使血糖下降。也有人发现胰岛素的作用与细胞内cGMP的浓度增加有关，因此认为它的"第二信使"是cGMP。

胰岛素也可能通过核酸来完成其作用。目前有两种观点。一种认为胰岛素可进入细胞而直接作用于DNA。近年报道，在细胞内可能存在胰岛素的作用部位。实验证明，胰岛素能进入完整的人细胞，并与核结合。另一种观点认为胰岛素通过其"第二信使"而作用于DNA，设想"第二信使"与其受体结合后，引起后者构象变化，这种变化是激活基因所必需的，从而诱导葡糖激酶、丙酮酸激酶等酶的合成增加。

此外，铬虽不是胰岛素分子的一个组成部分，但胰岛素和靶细胞上蛋白受体结合的过程中需要铬原子。严重缺乏蛋白质和热量营养的人常伴有严重的铬缺乏，使身体不能有效地利用糖。

5. 胰高血糖素

为胰岛α细胞分泌的多肽激素，由29个氨基酸组成，已能人工合成。胰高血糖素的化

学结构如下：

5 10 15 20
His·Ser·Gln·Gly·Thr·Phe·Thr·Ser·Asp·Tyr·Ser·Lys·Tyr·Leu·Asp·Ser·Arg·Arg·Ala·Gln·

25
Asp·Phe·Val·Gln·Trp·Leu·Met·Asn·Thr

胰高血糖素的主要作用是促进肝糖元水解，从而使血糖升高。其作用原理是激活肝脏中腺苷酸环化酶使cAMP升高，从而增高磷酸化酶活性，催化肝糖元生成1–P–葡萄糖，后者进一步变成葡萄糖而使血糖浓度增加。胰高血糖素还具有促进脂解，促进心肌糖原酵解，加强心肌收缩力的作用。临床用于低血糖症、心血管疾病等。

6. 肾上腺激素

肾上腺分髓质和皮质两部分，这两部分的结构及胚胎发源完全不同，功能与结构是密切相关的，所以皮质和髓质所分泌的激素，其化学本质和生理功能也完全两样。髓质分泌的激素有肾上腺素和去甲肾上腺素，都是氨基酸衍生物，均属L型，其中肾上腺素的分泌量较多，交感神经末梢亦分泌去甲肾上腺素。肾上腺素和去甲肾上腺素的结构式如下：

肾上腺素和去甲肾上腺素都是由苯丙氨酸和酪氨酸转变而来。它的形成过程见图8–2。

肾上腺激素的分泌受中枢神经系统的管制，任何导致中枢神经系统兴奋加强的外因都能促进肾上腺激素的分泌。血糖降低也能促进肾上腺素的分泌。

生理功能：

1）对各种代谢的作用：与胰岛素的作用相拮抗。能够促进肝中糖元分解和肌肉中糖元酵解，增加血糖和血中的乳酸，这是由于肾上腺素通过升高cAMP而活化了肝脏和肌肉中的磷酸化酶所致。去甲肾上腺素也有上述作用，但作用较弱。

图8–2 肾上腺素和去甲肾上腺素的生物合成

肾上腺素还能促进脂解，使脂肪酸从脂肪组织中释出并促进脂肪酸氧化，使血及尿中酮体增加。对蛋白质的分解也有促进作用。

2）对心血管系统的作用：肾上腺素能明显升高血压，这是由于收缩小动脉、加速心率和增加心输出量而引起的。中等剂量的肾上腺素反而会放松一些血管如冠状动脉、骨骼肌中的小动脉等。去甲肾上腺素虽然减慢心率并对心输出量无明显影响，但它能使冠状动脉以外的全身小动脉收缩，所以也能升高血压。临床上两者常作为不同情况下的升压药，起抗休克作用。

3）对肌肉的作用：松弛胃肠道、子宫和支气管的平滑肌，收缩幽门和回盲部的括约肌。临床上常用肾上腺素治疗支气管哮喘，以松弛支气管平滑肌，扩张支气管而平息哮喘。去甲肾上腺素扩张支气管作用很弱。

我国特产的生药麻黄所含的麻黄碱（亦称麻黄素）和肾上腺素结构相似，也具有相似的药理作用，临床上常用它代替肾上腺素来治疗哮喘。

麻黄碱

7. 肾上腺皮质激素

由肾上腺皮质分泌，为类固醇激素。根据它们的功能，主要分为糖皮质激素、盐皮质激素和氮皮质激素三大类。迄今从皮质提取液中分析而发现的肾上腺皮质类固醇共30多种，但已知分泌到血液中发挥生理作用的却为数不多，如皮（甾）醇、皮（甾）酮、醛（甾）酮、11-β-羟雄（甾）烯二酮和脱氢表雄（甾）酮等。

糖皮质激素：

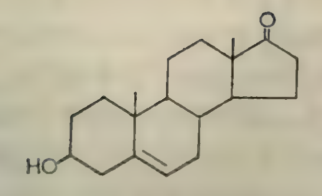
皮（甾）醇　　皮（甾）酮

可的松

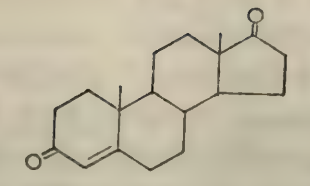
盐皮质激素：

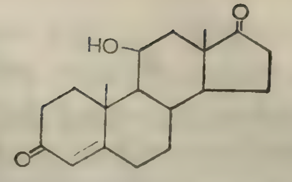
醛（甾）酮　　半缩醛型醛（甾）酮　　11-脱氧皮（甾）酮(DOC)

氮皮质激素：



脱氢表雄(甾)酮*(DHEA)

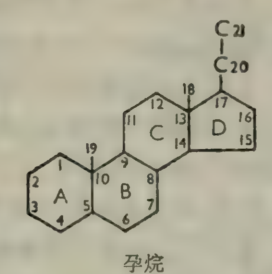

Δ^4-雄(甾)烯二酮



11-β-羟雄(甾)烯二酮

其他二种性激素为孕(甾)酮和雌(甾)二醇。

糖皮质激素和盐皮质激素均含 21 个碳原子，是孕烯族类固醇，在结构上的共同之处是：在 A 环上 C-4 位处有一不饱和键；在 C-3 上有一酮基；C-17 上有 α-酮醇基侧链；C-10 及 C-13 上各有一甲基。氮皮质激素(雄酮类)含 19 个碳原子，结构大同小异：C-3 上有时为酮基，有时为羟基；双键有时在 C-4 位，有时在 C-5 位；C-17上是一酮基而无 α-酮醇基侧链。



孕烷

(1) **生物合成** 用 ^{14}C-乙酸和 ^{14}C-胆固醇做动物试验，证明乙酸和胆固醇是类固醇激素的前体，通过分离纯化各种酶以及鉴定中间产物的研究，提出了皮质类固醇激素的生物合成途径，图 8-3 表示从乙酰 CoA 开始，经胆固醇、孕烯醇酮、17α-羟孕烯醇酮和脱氢表雄酮等重要中间物，转化为各种类固醇激素的过程。

(2) **生理功能**

1) 糖皮质激素：在 C-11 上均有氧原子，又称 11-氧皮质类固醇。正常人体肾上腺皮质分泌入血的主要是皮(甾)醇和皮(甾)酮。此类激素对糖代谢的作用很强，而对钠、钾代谢作用很小，所以有糖皮质激素之称。

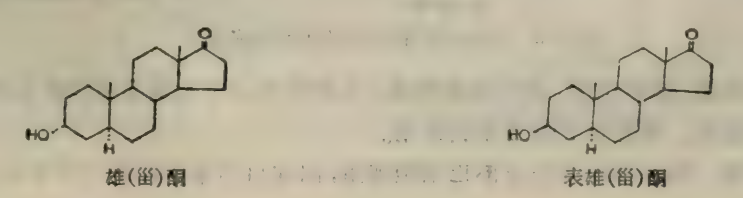
① 促进糖元异生和葡萄糖新生，抑制血糖的利用，由于抑制葡萄糖的氧化，故血糖有偏高现象，糖尿病患者不宜用此激素。

② 促进皮肤、肌肉等外周组织中蛋白质分解，但不促进肝脏等内脏中蛋白质的分解，故长期应用此类激素会出现皮肤变薄、肌肉无力等症状。

③ 促进体脂动用及肠道吸收脂肪，抑制糖生成脂肪。

---

* "表"的意义是表示甾类化合物 C-3 上基团方向不同的异构体。例如雄(甾)酮 C-3 上的羟基在环平面下方，而表雄(甾)酮 C-3 上的羟基在环平面上方。



雄(甾)酮　　　　表雄(甾)酮

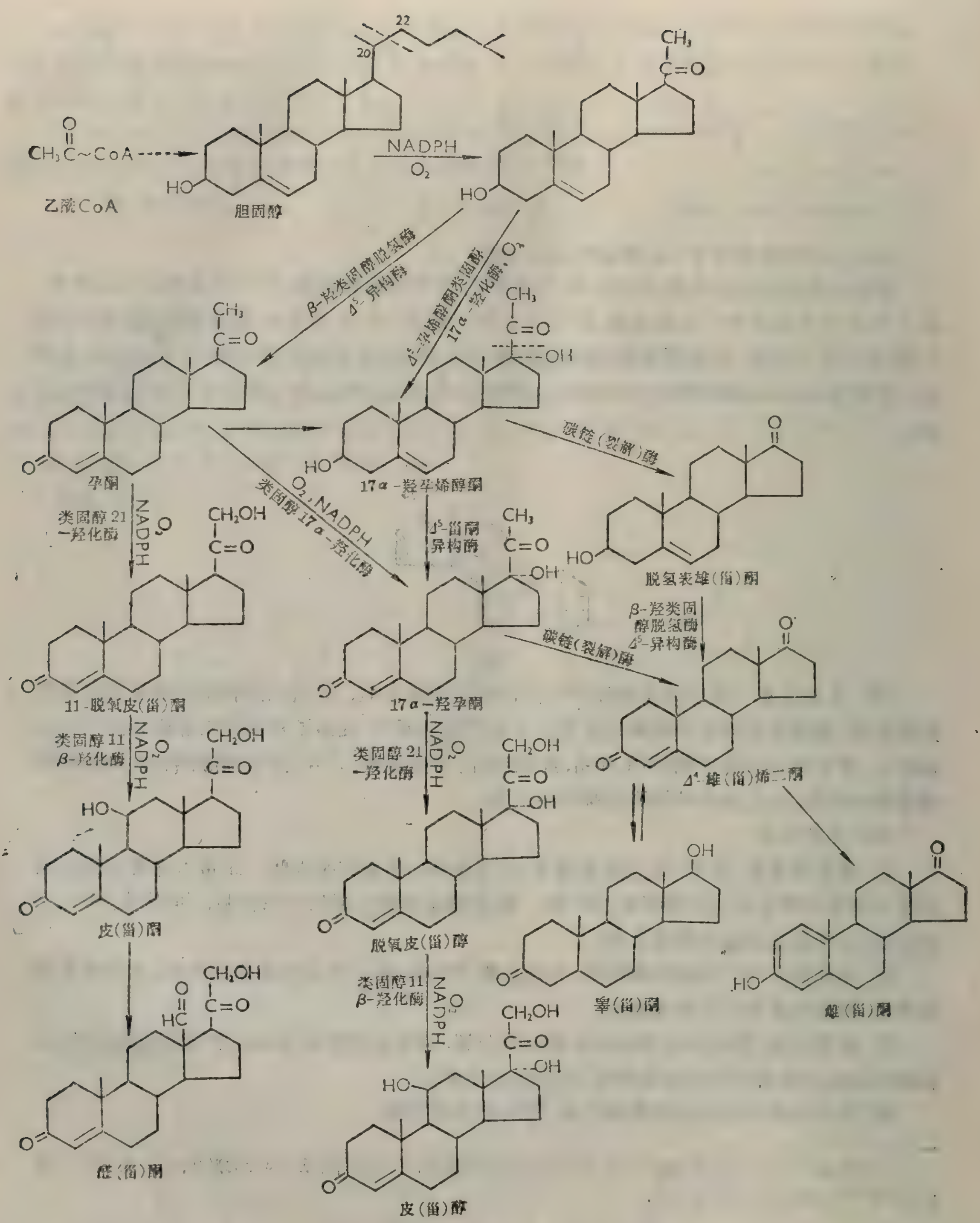


图 8-3　各种类固醇激素的生物合成途径

④ 有轻度滞钠、排钾作用，维持细胞外液，长期应用可导致钠滞留和低血钾，临床上有水肿、高血压等症状。此外还有轻度排钙作用。

⑤ 其他作用：可使淋巴组织及淋巴细胞崩解，因此可用来治疗淋巴瘤及淋巴细胞白血

病。促使红细胞、血小板及中性粒细胞增生，临床上有时用来治疗粒细胞减少症，同时尚有抗炎症作用、抗过敏作用及加强抗毒反应。在毒血症时，周围循环衰竭，宜早期使用此类激素，能缓解毒素引起的过敏反应，减轻毒素对机体的损害。大剂量可增加心排出量，改善周围循环，增强升压药的效果。临床上用来治疗各种严重的细菌感染，过敏性疾患和中毒性休克等，但由于它的抗炎作用只是减少炎症反应，而不能消灭细菌，所以不能单独使用于细菌性炎症。此外还能加强神经兴奋及促进消化液分泌等，故对精神病及溃疡病患者应慎用。

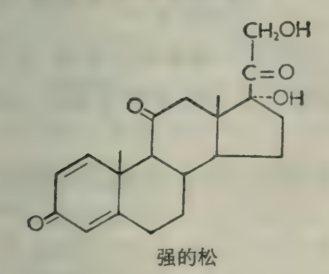
促肾上腺皮质激素可促进糖皮质激素的合成和分泌。

2）盐皮质激素：主要作用于钠、钾、氯化物、水代谢，故有盐皮质激素之称。各种盐皮质激素对钠、钾的作用强弱不同，而以醛（甾）酮为最强，有促进肾小管回吸收钠、水和排钾的作用，从而维持人体内环境体液量和血容量。血管紧张肽 II 和低血钠等可促进醛（甾）酮的合成和分泌。

3）氮类皮质激素：以脱氢表雄（甾）酮为最重要，主要作用于肌肉、毛发及第二性征等，有蓄氮作用，可使毛发增加，肌肉发达，促进精子成熟等。

此外，不论男性还是女性，皮质中尚有微量孕酮等雌性激素。

目前应用于临床的皮质类固醇，主要是糖皮质激素。近年来，为了增强此种激素的治疗作用，减少副作用，人们在改变类固醇的化学结构上作了很大努力，已合成了许多可的松衍生物，常用的有强的松（又名泼尼松）、地塞米松等。强的松由于在第 1、2 碳间为双键，而导致抗炎、抗过敏作用，较可的松或氢化可的松强 3～5 倍，而对水、盐的作用则较弱。地塞米松由于在 9 碳 α 位上加氟及 16 碳 α 位上加甲基，抗炎、抗过敏作用比氢化可的松（皮甾醇）强 35 倍，而对钠、水的潴留作用极弱，这是人们通过实验，掌握了结构与功能之间相互关系的规律后，所作出的有益贡献。



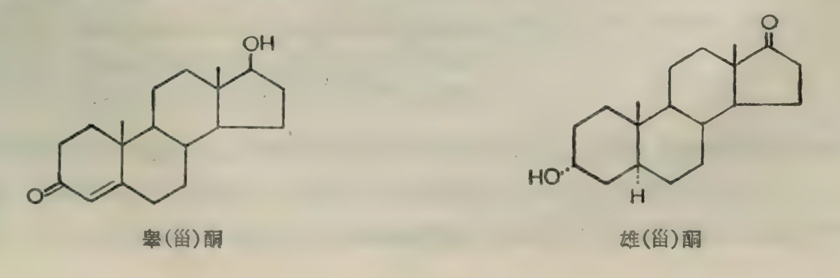
强的松

地塞米松

8. **性激素**

一般均属类固醇，分为雄性激素和雌性激素两类。

（1）*雄性激素* 重要的有睾（甾）酮、脱氢表雄（甾）酮和雄（甾）酮等，睾（甾）酮由睾丸间隙细胞所分泌，脱氢表雄（甾）酮为肾上腺皮质所分泌（结构见肾上腺皮质激素），雄（甾）酮可能是雄激素的代谢产物，它们的结构式如下：



睾（甾）酮 雄（甾）酮

生理功能主要是促进生长发育和副性征的发育，促进蛋白质合成，使肌肉发达，促进精子成熟等。

(2) 雌性激素　有雌激素和孕激素两种。卵泡、黄体和胎盘分泌雌激素如雌二醇，黄体和胎盘分泌孕激素，如孕酮。它们的结构式如下：

孕(甾)酮　　雌(甾)二醇

雌激素的生理功能主要是促进子宫发育、内膜增生，促进输卵管发育、蠕动增加，促进副性性征发育等，总的结果是有助于生育。

孕激素的生理功能主要是在雌激素作用基础上，使子宫内膜自增生期转变为分泌期，促进子宫发育，帮助胚胎正常发育等，总的结果是有助于胎儿着床发育。

临床上雄性激素和雌性激素都可作为药物，由于从生物组织中提取困难，故多用人工合成产物来代替天然产物。口服避孕药如炔诺酮和乙炔雌二醇就是人工合成的孕激素和雌激素，它们的结构式如下：

炔诺酮　　乙炔雌二醇

临床上常用的口服避孕片 1 号含炔诺酮和乙炔雌二醇，避孕成功率在 99% 以上。避孕原理主要是通过抑制下丘脑-垂体-卵巢系统，从而抑制垂体促性腺激素分泌而达到抑制排卵和使子宫内膜不宜于受精和种植。

临床上常用的避孕药还有多种人工合成的长效避孕药如炔雌醚、戊酰雌二醇(或称戊酸雌二醇)、长效黄体酮(或称己酸孕酮)等，结构式如下：

炔雌醚　　戊酰雌二醇

长效黄体酮

炔雌醚具有长效作用，服后由脂肪组织吸收，然后再慢慢释放代谢成乙炔雌二醇。戊酰雌二醇与长效黄体酮配伍为避孕针1号，注射一次可避孕一个月。

此外，人工合成的己烯雌酚（或称乙蔗酚）和己雌酚虽不属甾类，也有雌激素活性，这可能由于其空间构型与雌激素有相似之处。它们可用于功能性子宫出血、老年性阴道炎等妇科疾病中。但在孕期使用己烯雌酚曾有引起所生女孩得阴道癌的报道。家禽过去用切除法阉鸡，目前已应用化学法，即在雄鸡发育之前，在鸡颈部埋少量己雌酚，起雌激素作用，使雄鸡性器官不发育而肉肥嫩。己烯雌酚和己雌酚的结构式如下：

己烯雌酚　　　　己雌酚

卵巢还有一种能使骨盆韧带松弛、子宫颈变软的多肽，称为松弛素，可能与分娩有关。

9. 脑下垂体激素

脑下垂体位于脑的下方，由结构和功能完全不同的前叶（腺体叶）和后叶（神经叶）两部分组成。后叶由神经纤维组成，直接与下丘脑相连。过去认为抗利尿激素（加压素）和催产素是后叶产生的，现在已知它们都在下丘脑某些特殊化了的神经细胞中形成，然后顺着神经纤维运送并贮存于后叶，在受到适当刺激时再分泌入血的。

(1) 前叶激素　前叶产生和分泌的激素除了控制生长、调节代谢的生长素（GH）外，其余大都是促进分泌相应激素的促激素。垂体前叶通过分泌促激素来支配“外周”内分泌腺（如甲状腺、性腺及肾上腺皮质等）的功能，而垂体前叶激素本身的分泌又受丘脑下部激素的控制。下丘脑激素、垂体激素与靶组织之间的关系可见图8-4。

目前已经知道垂体前叶产生八种多肽与蛋白质激素，现分别叙述如下。

1) 促肾上腺皮质激素（ACTH）、促黑激素（MSH）和促脂肪水解激素（β-LPH）：ACTH和α-MSH在化学结构上非常相似，大体上可以说α-MSH是ACTH分子中的一部分。ACTH是由39个氨基酸组成的多肽。不同动物来源的ACTH的化学结构在25～33九个氨基酸残基上有差异。下面是不同动物来源的ACTH化学结构：

Ser·Tyr·Ser·Met·Glu·His·Phe·Arg·Trp·Gly·Lys·Pro·Val·Gly·Lys·
1　　　　　5　　　　　10　　　　　15

Lys·Arg·Arg·Pro·Val·Lys·Val·Tyr·Pro
　　　　　20

牛 Asp·Gly·Glu·Ala·Glu·Asp·Ser·Ala·Glu
25　　　　　30

羊 Ala·Gly·Glu·Asp·Asp·Glu·Ala·Ser·Glu

猪 Asp·Gly·Ala·Glu·Asp·Gln·Leu·Ala·Gln

人 Asn·Gly·Ala·Glu·Asp·Glu·Ser·Ala·Glu

（以上四行共接）Ala·Phe·Pro·Leu·Glu·Phe
35　　　　　39

ACTH的主要功能是促进糖皮质激素的合成和分泌。此外，还具有促进脂肪细胞中的脂解过程、促进胰岛的β细胞分泌胰岛素和垂体前叶分泌生长激素的作用。

关于ACTH的结构和功能的研究结果证明，羧基端部分和种属差异部分，对活力是无

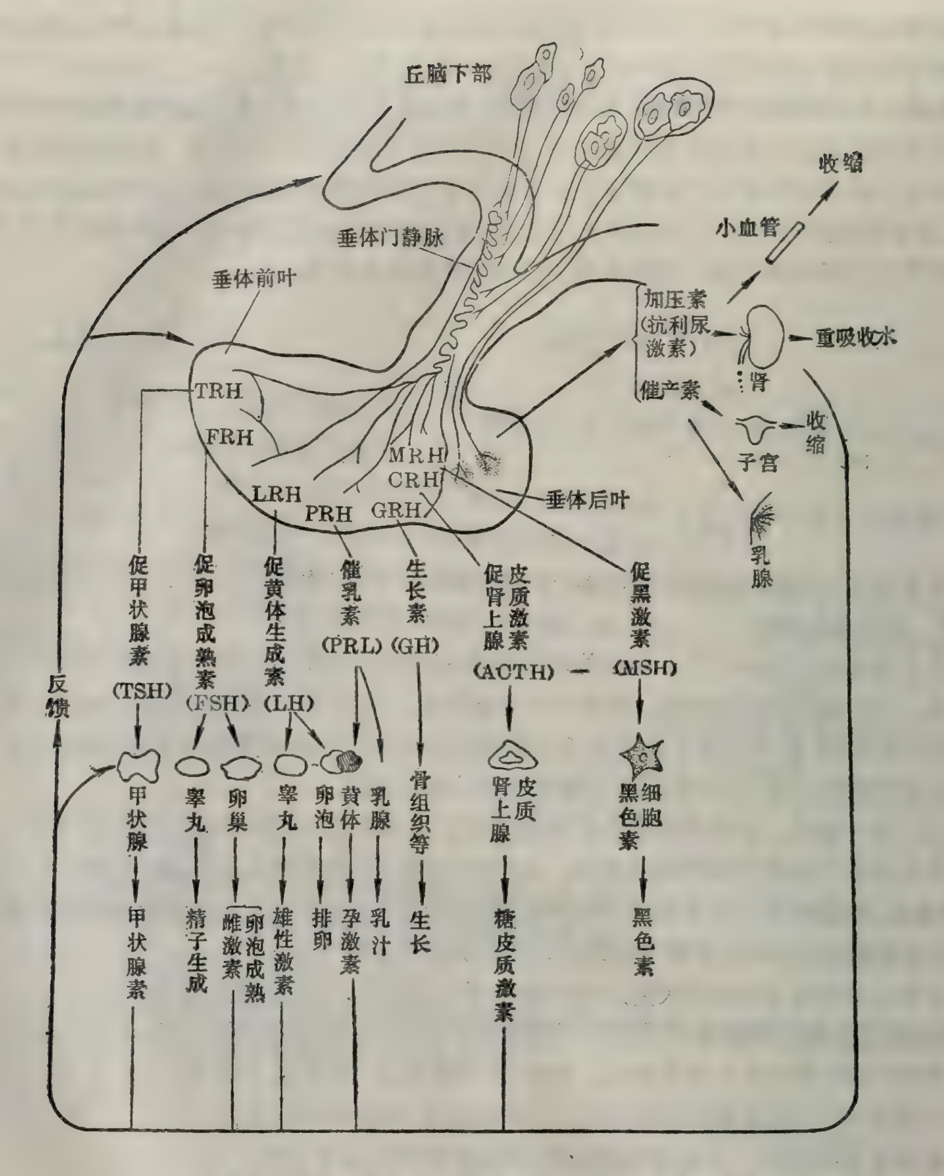


图 8-4 下丘脑激素、垂体激素与靶组织间的关系示意图

关紧要的。从羧基端去掉 20 个氨基酸残基以后，活力仍为天然的 70% 以上。所以人工合成生产 ACTH 就用不着去合成 39 个氨基酸的肽，而只要合成 20 个左右氨基酸的肽就可以了。尤其值得注意的是，随着肽链的缩短，α-MSH 的活力也提高。

MSH 的主要作用是促进皮肤黑色素细胞分泌黑色素。垂体内存在两种 MSH。一种是 13 肽的 α-MSH，它实际上是 ACTH 氨基端十三肽，只不过氨基端的 α-氨基被乙酰基所保护，羧基端是一个酰胺。氨基端的乙酰基对活力影响很重要，去掉后，活力丧失 80%。不同动物来源的 α-MSH 化学结构是一样的。另一种叫 β-MSH，不同来源的 β-MSH 化学结构有差异，而且活力亦不同。下面是不同动物来源的 α-和 β-MSH 的化学结构，方框内表示 α-和 β-MSH 相同结构部分。

				5 10			
α-MSH(猪、牛、马)	CH_3CO-Ser·	Tyr· 5	Ser·	Met·Glu·His·Phe·Arg·Tyr·Gly· 10	Lys·	Pro· 15	Val-NH_2
β-MSH(猪)	Asp·Glu·Gly·Pro·	Tyr·	Lys·	Met·Glu·His·Phe·Arg·Tyr·Gly·	Ser·	Pro·	Pro·Lys·Asp·
β-MSH(牛)	Asp·Ser·Gly·Pro·	Tyr·	Lys·	Met·Glu·His·Phe·Arg·Tyr·Gly·	Ser·	Pro·	Pro·Lys·Asp·
β-MSH(马)	Asp·Glu·Gly·Pro·	Tyr·	Lys·	Met·Glu·His·Phe·Arg·Tyr·Gly·	Ser·	Pro·	Arg·Lys·Asp·
β-MSH(人)	5 Ala·Glu·Lys·Lys·Asp·Glu·Gly·Pro·	Tyr·	10 Arg·	15 Met·Glu·His·Phe·Arg·Tyr·Gly·	Ser·	Pro·	20 Pro·Lys·Asp·

NH_2-Phe-Pro-Thr-Ile-Pro-Leu-Ser-Arg-Leu-Phe-Asp-Asn-Ala-Met-Leu-Arg-Ala-His-Arg-Leu-His-Gln-Leu-
1 5 10 15 20

Ala-Phe-Asp-Thr-Tyr-Gln-Glu-Phe-Glu-Glu-Ala-Tyr-Ile-Pro-Lys-Glu-Gln-Lys-Tyr-Ser-Phe-Leu-Gln-Asn-
25 30 35 40 45

Pro-Gln-Thr-Ser-Leu-Cys-Phe-Ser-Glu-Ser-Ile-Pro-Thr-Pro-Ser-Asn-Arg-Glu-Glu-Thr-Gln-Lys-Ser-Asn-
50 55 60 65 70

Leu-Gln-Leu-Leu-Arg-Ile-Ser-Leu-Leu-Leu-Ile-Gln-Ser-Trp-Leu-Glu-Pro-Val-Gln-Phe-Leu-Arg-Ser-Val-
75 80 85 90 95

Phe-Ala-Asn-Ser-Leu-Val-Tyr-Gly-Ala-Ser-Asn-Ser-Asp-Val-Tyr-Asp-Leu-Leu-Lys-Asp-Leu-Glu-Glu-Gly-
100 105 110 115

Ile-Gln-Thr-Leu-Met-Gly-Arg-Leu-Glu-Asp-Gly-Ser-Pro-Arg-Thr-Gly-Gln-Ile-Phe-Lys-Gln-Thr-Tyr-Ser-
120 125 130 135 140

Lys-Phe-Asp-Thr-Asn-Ser-His-Asn-Asp-Asp-Ala-Leu-Leu-Lys-Asn-Tyr-Gly-Leu-Leu-Tyr-Cys-Phe-Arg-Lys-
145 150 155 160 165

Asp-Met-Asp-Lys-Val-Glu-Thr-Phe-Leu-Arg-Ile-Val-Gln-Cys-Arg-Ser-Val-Glu-Gly-Ser-Cys-Gly-Phe-COOH
170 175 180 185 190

图 8-5 人的生长素的化学结构

(现在认为 68 与 69 位之间应加上一个 Gln，这样分子中氨基酸总数从 190 个增至 191 个)

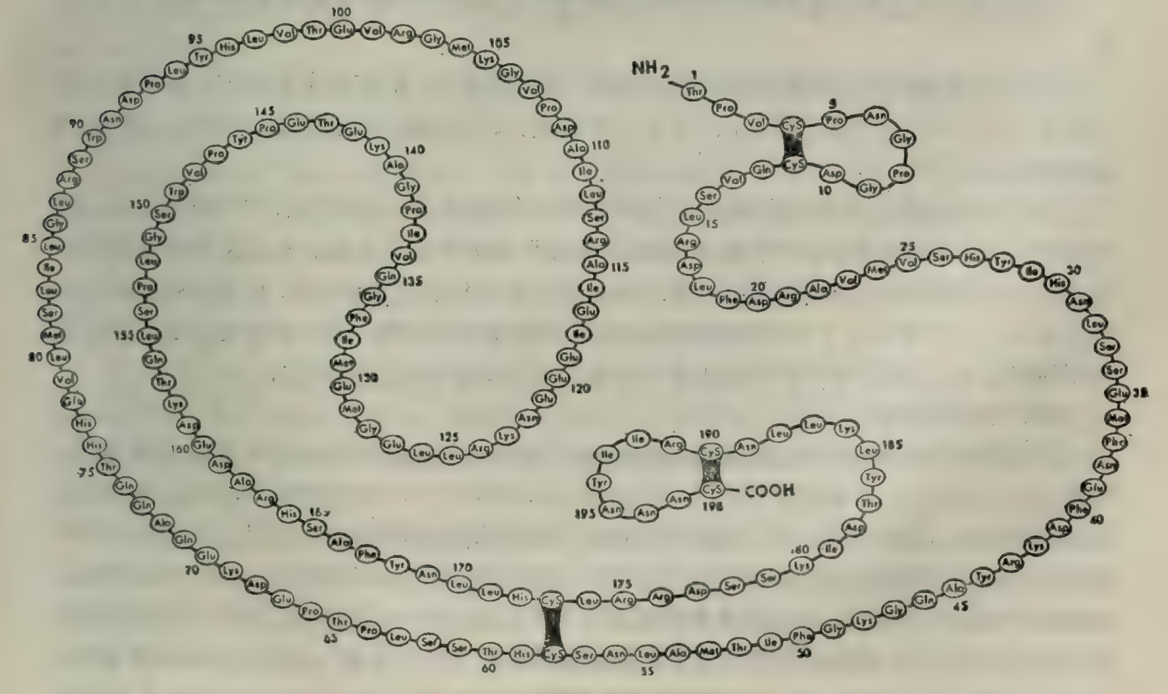


图 8-6 羊的催乳素的化学结构

2) 生长素(GH)和催乳素(PRL 或 LTH)：它们都是蛋白质激素，其化学结构见图 8-5 和图 8-6。

生长素的主要功能是促进组织和骨骼生长。人体如缺少生长素就患侏儒症。不同种属来源的生长素的化学结构有很大差异，因而在功能上表现有一定的种属特异性。从牛分离出来的生长素对人没有作用，而人和猴的生长素可以通用。

催乳素除能刺激乳腺分泌乳汁外，还能促使卵巢黄体分泌孕酮。但奇怪的是催乳素在男性体内的含量竟和女性一样，它在男性体内的功能至今还不清楚。

由于生长素和催乳素化学结构相类似，因此生理功能也有相似之处，如人的生长素不仅具有促生长作用，还具有催乳作用。

值得一提的是，人的绒毛膜还分泌一种同时具有催乳素和生长素活力的蛋白激素，称为生长催乳素(somatomammotropin)，由 191 个氨基酸组成。

3) 促黄体生成素(LH)、促卵泡成熟素(FSH)和促甲状腺素(TSH)：这三个激素都是糖蛋白。LH 的功能是促使卵巢黄体生成和促使黄体分泌孕激素，同时还具有促进卵泡排卵的作用。对于雄性，LH 有时又称促间质细胞素(ICSH)，可促使睾丸的间隙细胞(又称间质细胞)分泌雄性激素。FSH 控制性细胞(精子和卵子)的发育和成熟，并具有促使卵巢分泌雌激素的作用。TSH 的作用是促使甲状腺分泌甲状腺素。

LH, FSH 及 TSH 三种激素都由两个亚基即 α-亚基和 β-亚基组成。这三种激素的 α-亚基在化学结构上很相似，但不表现激素的功能。而 β-亚基差异较大，正是这个差异决定了这三种激素各自的特性。LH 的化学结构测定工作做得较多，羊 LH 的 α-亚基和 β-亚基的氨基酸排列顺序以及二硫键位置都已确定。人和猪的 LH 的亚基的氨基酸排列顺序也已初步确定。

TSH 的 α-亚基氨基酸排列顺序也已初步阐明，但 FSH 的化学结构至今还未弄清楚。

此外，人的绒毛膜促性激素(HCG)，虽然不属垂体激素，但其化学结构与上述的垂体前叶激素(LH、FSH 及 TSH)很相似，也是一个糖蛋白，也由两个亚基组成，具有与 LH 相类似的作用。

(2) *后叶激素* 在下丘脑形成，有抗利尿激素(即加压素)和催产素，它们都是九肽。过去从动物垂体后叶中提取，产量低，杂质多，现在已能大量人工合成。抗利尿激素是调节体内水代谢的重要物质，主要具有抗利尿作用，也有收缩毛细血管等作用，可治疗尿崩症。我国还合成了疗效高而几乎没有加压副反应的抗利尿激素类似物。催产素能促进子宫和乳腺的平滑肌收缩，临床用于引产及减少子宫出血。它们的结构式见第四章。

10. 下丘脑激素

下丘脑中不同类型的神经核团细胞合成和分泌多种控制释放垂体前叶激素的激素，称为释放激素(RH)和抑制激素(IH)，过去亦称为释放因子(RF)和抑制因子(IF)。它们通过垂体门静脉进入垂体前叶，从而促进或抑制相应的垂体激素释放。例如促甲状腺素释放激素(TRH)、促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促黄体生成激素释放激素(LRH)、促卵泡成熟激素释放激素(FRH)、催乳激素释放激素(PRH)、生长激素抑制激素(GIH)、促黑激素抑制激素(MIH)等。释放激素或抑制激素在动物体内的分泌量极微，以皮克(pg)的量存在，但却能起很强大的作用，它们是调节脑垂体激素的枢纽。通过下丘脑与垂体前叶之间的局

部血液循环即垂体门脉系统，迅速地由下丘脑运至前叶，从而十分有效地调节前叶各种激素的分泌。

近几年来国内外对下丘脑激素的研究十分活跃。我国已先后合成了下丘脑激素中的促甲状腺素释放激素和促黄体生成激素释放激素及其类似物。这些工作不仅填补了我国多肽激素的空白，进入了世界先进行列，并成功地应用于医学临床和家鱼繁殖等方面。

已经确定化学结构并已人工合成的有四种：

(1)生长激素抑制激素(SS, GIH)，为十四肽：

S——S（Cys—Cys 二硫键）

Ala·Gly·Cys·Lys·Asn·Phe·Phe·Trp·Lys·Thr·Phe·Thr·Ser·Cys

(2) 促黄体生成激素释放激素(LRH，简称促黄体素释放激素)，为十肽，结构式见第四章。

(3) 促甲状腺素(TRH)，为三肽：PGlu·His·Pro·NH_2。

焦谷氨酸残基　组氨酸残基　脯酰胺残基

(4) 促黑激素抑制激素(MIH)，为三肽：Pro·Leu·Gly·NH_2 和五肽：Pro·His·Phe·Arg·Gly·NH_2。

TRH 和 LRH 的 N-末端都是焦谷氨酸。焦谷氨酸(PGlu)是一个环状内酰胺，是这两种释放激素的生物学活性所必需的结构。

下丘脑激素有广阔的应用前景。GIH 可用来控制血糖；TRH 可用于甲状腺机能减退症的诊断和治疗，并对授乳妇女有催乳作用；LRH 可用于妇科各种闭经的诊断并可治疗因下丘脑-垂体系统机能缺陷引起的不育症，LRH 的拮抗物也有可能用作避孕。国内已人工合成 TRH、LRH 及其类似物。后者已成功地应用于家鱼的催产和治疗下丘脑机能减退症等，并正在探索其避孕作用，我国合成的 TRH 也已试用于临床。

受下丘脑和垂体调节的内分泌腺所分泌的激素又反馈作用于下丘脑或垂体，影响下丘脑和垂体中各种相应激素的分泌。例如肾上腺皮质分泌的糖皮质激素过多时可对下丘脑或垂体起负反馈作用，抑制下丘脑分泌促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)和抑制垂体分泌促肾上腺皮质激素(ACTH)。

下丘脑、垂体与其所作用的内分泌腺之间的相互对立统一，维持了人体内各种内分泌腺活动的协调。下丘脑是中枢神经系统的一部分，外界刺激传至下丘脑，再通过下丘脑影响到垂体的分泌，所以垂体的分泌与神经系统和外界环境都是密切相关的。如甲状腺机能亢进患者常有精神刺激(悲伤、愤怒、惊吓、恐惧等)历史，提示各种不良刺激通过下丘脑-垂体-甲状腺轴，使 TRH、TSH 和甲状腺素分泌过多而引起本病。

11. 血管紧张肽

存在于血液中，亦称增血压素或血管紧张肽 II，为八肽。其形成过程如下：

NH$_2$·Asp·Arg·Val·Tyr·Val·His·Pro·Phe·His·Leu·Leu·Val·Tyr·Ser α_2-球蛋白
血管紧张肽原
↓ 血管紧张肽原酶(Renin)
NH$_2$·Asp·Arg·Val·Tyr·Val·His·Pro·Phe·His·Leu·OH
血管紧张肽 I
↓ 转化酶
NH$_2$·Asp·Arg·Val·Tyr·Val·His·Pro·PheOH+NH$_2$·His·LeuOH
血管紧张肽 II

它的前身是血管紧张肽 I(10 肽)，后者从血管紧张肽原(14 肽)而来。它可使皮肤、肌肉血管收缩，而使心、肾等内脏血管扩张，并能促进醛(甾)酮的合成和分泌，因此具有显著的增高血压的作用。

临床用于中毒性休克、失血性休克等病员的抢救，疗效显著，副作用小。

12. 血管舒缓激肽(bradykinin)

存在于血液中，简称舒缓激肽，是 α_2-球蛋白的酶解碎片，为九肽：

H·Arg·Pro·Pro·Gly·Phe·Ser·Pro·Phe·ArgOH

具有舒张血管、降低血压、致痛等作用。

13. 前列腺素(PG)

近年来发现的作用和激素相似、而化学本质是脂肪酸的前列腺素是不是算作激素，目前尚有不同看法。

前列腺素并不是由前列腺所分泌，而是由分泌精液的精液腺所分泌，而且可在其他体液和组织中找到。它不象其他的激素那样，在内分泌腺体分泌，通过血液循环，作用于靶器官，而是当需要的时候，在各组织中合成放出，所以很可能是细胞功能的局部调节物。前列腺素是 20 碳的羧酸，它们由体内某些多烯脂肪酸通过形成五元环和在某些位置上结合三个氧原子而成。例如 PGE$_2$ 或 PGF$_{2\alpha}$ 能够直接从花生四烯酸形成，而 PGE$_3$ 或 PGF$_{3\alpha}$ 可由与花生四烯酸非常相似的 5, 8, 11, 14, 17-廿烷五烯酸形成，见下式(虚线是指伸向环戊烷平面下方)。

花生四烯酸(5, 8, 11, 14-廿烷四烯酸)

PGE$_2$

PGF$_{2\alpha}$

COOH

PGE₃

5, 8, 11, 14, 17-廿烷五烯酸

PGF₃α

参与合成的酶在各种组织中分布很广，并证明很多组织都能合成前列腺素。前列腺素有许多种，根据五元环上结构的不同，分为 E、F、A、B 四型(见第三章)。

前列腺素具有广泛的生理功能，每种前列腺素有其专一的作用，现举例说明如下：

(1) PGE_2 能降血压，而结构与它稍有不同的 PGF 却升高妊娠妇女的血压；两者都能促进子宫收缩，有助于分娩。

(2) PGE_1 能松弛支气管平滑肌。

(3) PGA_1 能促进排钠而利尿。

目前 PGE_2 以及 PG 类似物已试用于催产、中期引产和抗早孕等，但它也有可能用来治疗高血压、哮喘、胃溃疡病等。

此外，由于磷脂供给前列腺素形成的前体——必需脂肪酸，而磷脂是细胞膜的重要组成成分，因此有人认为前列腺素和细胞膜本身功能的调节很有关系。

上述的一些激素仅是几种比较重要的动物激素。实际上动物激素还有许多，如肠高血糖素、促胃酸激素、缩胆囊肽(又称肠促胰酶肽)、促红细胞生成素、肠抑胃素、血管活性肠肽、褪黑激素、胸腺激素等，由于对它们的了解尚欠深入，这里就不作介绍了。

三、激素的作用原理

1. 通过核酸起调节作用

有一些激素直接进入细胞作用于细胞核的 DNA，激活那些转录 mRNA 的基因，诱导某些酶的合成，从而起到调节作用。在这类激素作用下，在哺乳动物中可观察到以 DNA 为模板的 RNA 聚合酶的活性增加以及 mRNA 合成速率增加，因而以 mRNA 为模板合成酶蛋白的速率也增加。

关于激素诱导酶合成的机制，有人设想与微生物中底物诱导酶合成相似，即激素能辨认专一的抑制因子并与之结合，把抑制因子从基因上解脱下来，使原来被其遮盖的基因上的信息转录到 mRNA 上，然后再进一步转译合成酶蛋白。

糖皮质激素、甲状腺素、生长激素和雌性激素等是通过核酸起作用的；ACTH、TSH 和胰岛素等至少部分是通过核酸而作用的。

2. 通过 cAMP 起调节作用

有许多激素是通过 cAMP 作媒介而发挥作用的。cAMP 是 1957～1958 年间在研究肾上腺素及胰增血糖素对肝糖元的分解作用时被发现的。以后根据许多实验，有人在 1965 年提出了激素作用的"第二信使"学说。

(1) *"第二信使"学说* 此学说认为，当具有内分泌功能的细胞受到刺激后，就分泌出激素。激素作为第一信使，从其发源细胞将信息传递至效应细胞(靶细胞)，激活或抑制效应细胞膜上的腺苷酸环化酶，使细胞内 cAMP 的含量发生变化。cAMP 则自由扩散到整个细胞，作为第二信使，指令细胞产生特有的反应，例如指令脂肪细胞使贮存的脂肪加速分解，指令肝细胞使糖元分解成葡萄糖，等等。在此过程中，激素不进入细胞内，而通过 cAMP 作为其细胞内的传递介质而发挥生理作用。所以，cAMP 是激素效应的中间环节。

(2) *以 cAMP 为中介的激素作用的特异性机理* 如何解释作用完全不同的激素都通过同一介质 cAMP 而发挥作用呢？根据一些实验分析，有人设想腺苷酸环化酶(cAMP 酶)可能由两种亚单位组成，一种为调节亚单位 R，另一种为催化亚单位 C。R 面对细胞外液，作为受体与激素相互作用，C 的活性中心与细胞内液接触。当激素作用于受体时，使 R 和 C 的构型改变，继而改变了 C 的活性，导致 cAMP 的量发生变化。由于 R 对激素的反应不同，因而表现出某种激素只对某一种或某几种专一的靶细胞产生影响。也有人设想受体与 cAMP 酶是两个可自由流动的独立的蛋白质分子，当激素与受体结合后，由于受体构象发生了变化，才能与 cAMP 酶结合，从而激活 cAMP 酶。

(3) *"第二信使"作用机理——"蛋白激酶"说* 细胞内 cAMP 的含量升高或降低，为什么会引起各种不同的生理作用呢？经过大量实验研究表明，cAMP 主要是通过激活不同组织中特异的蛋白激酶而发挥不同生理效应的。它可能由两个部分组成，一个是催化部分，即有活性的蛋白激酶，或称活性亚单位；另一个是与催化部分相连的抑制部分，即受体蛋白，或称调节亚单位，后者抑制前者。cAMP 可与受体蛋白结合，使受体蛋白与活性蛋白激酶解离而释放出有活性的蛋白激酶。活性蛋白激酶然后再使其他蛋白质(例如酶、组蛋白等)磷酸化，从而调节很多代谢反应。cAMP 在蛋白激酶的活化过程中起着去抑制的作用。含量甚微的激素首先激活腺苷酸环化酶，增加 cAMP 的生成。后者又进一步激活蛋白激酶再起代谢调节作用。腺苷酸环化酶和蛋白激酶好象是微量的激素放大器。图 8-7 表示激素作用的生物

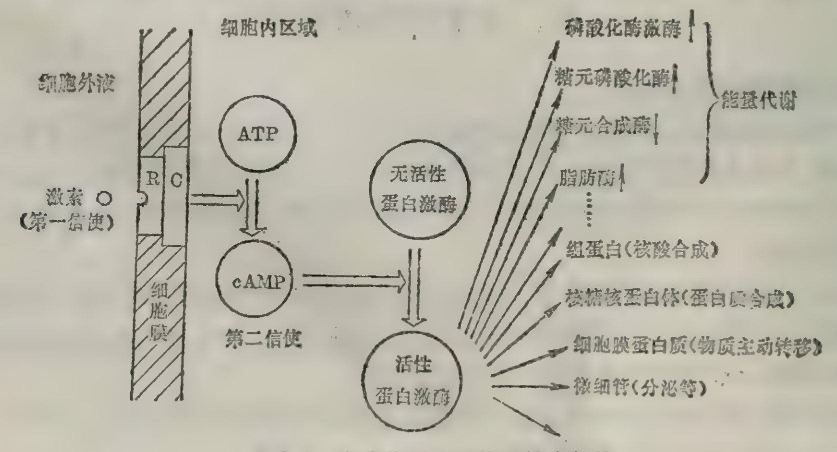


图 8-7 激素作用的生物学放大机构

放大机构。

关于以 cAMP 为中介的激素作用机理，研究得最详尽的是 cAMP 在促进肝糖元分解过程中，对有关酶的作用效应。过程如下：

1) 当动物需要付出大运动量时，在中枢神经系统控制下，肾上腺素的分泌大大增加，肾上腺素（第一信使）顺着毛细管血流到达靶细胞（肝细胞）上，肝细胞膜上的腺苷酸环化酶被激活，从而促使细胞质中 ATP 转化为 cAMP。

2) cAMP（第二信使）激活一种蛋白激酶（磷酸化酶 b 激酶的激酶）。

3) 这个蛋白激酶使磷酸化酶 b 激酶活化，后者使磷酸化酶从惰性状态 b 变成活性状态 a，催化糖元降解成 1-磷酸葡萄糖，再转变为葡萄糖而进入血液，输送到全身各组织、器官中，供细胞分解产生能量。图 8-8 为上述过程的示意图。

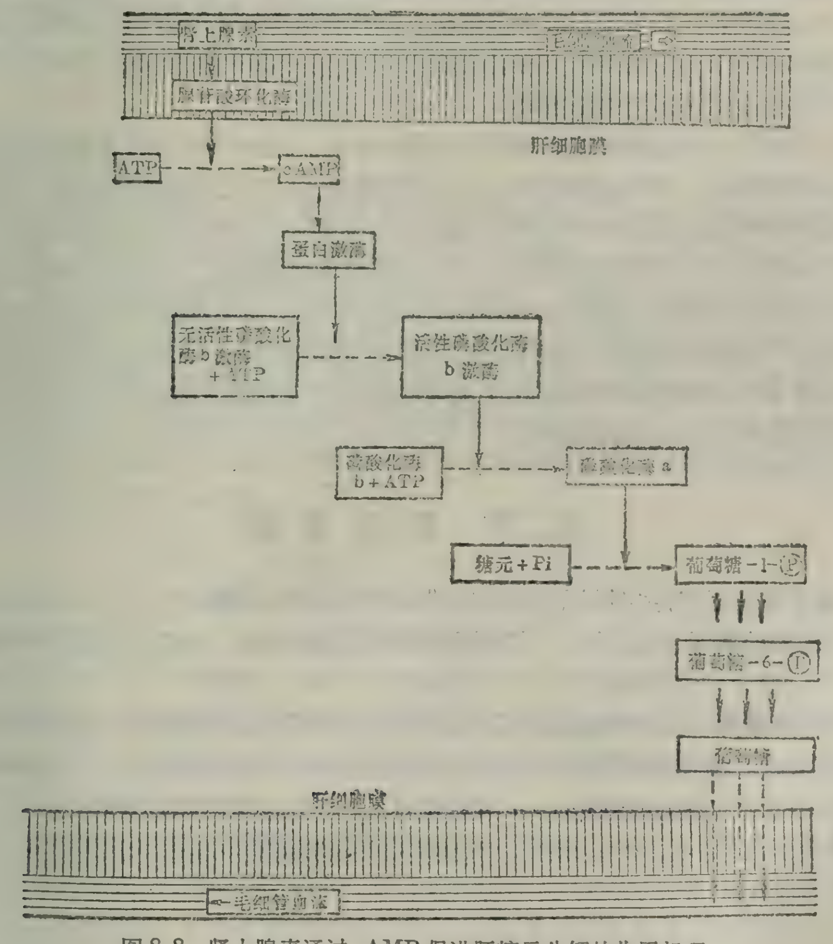


图 8-8　肾上腺素通过 cAMP 促进肝糖元分解的作用机理

此外，cAMP 本身还具有直接的生理功能，如对细胞膜的通透性、心肌收缩、造血细胞及辐射损伤细胞增殖、控制细胞生长和分化、抑制癌细胞增殖等许多生理过程都具有调节作用。这些调节功能有的可能与激素无关，有的虽是在激素作用下发挥生理作用，但不通过蛋白激酶机理，这些都有待于进一步研究。

(4) cAMP 的临床应用　cAMP 进入机体后很易被组织中普遍存在的 cAMP 磷酸二

酯酶水解而失去作用，而且 cAMP 对细胞膜的渗透性较差，而合成的双丁酰 cAMP(DBC-AMP)在药效上比 cAMP 持久有效。目前 cAMP 和 DBCAMP 已用于临床，对冠心病和牛皮癣有治疗效果。由于 cAMP 能使细胞膜上的与 ATP 复合的钙离子释放，同时改变细胞膜的功能，促进呼吸链氧化酶的活性，故有改善心肌缺氧的作用，可用来治疗冠心病。对牛皮癣的治疗作用可能是由于抑制了表皮细胞的过度增殖和异常分化。随着 cAMP 研究的进一步深化，对 cGMP (3′, 5′-环状鸟苷酸) 的生理功能也展开了研究。cGMP 最早是在 1963 年从大白鼠的尿中分离出来而被发现的。cGMP 也是激素的一种重要的"第二信使"，而且是 cAMP 的拮抗物。机体内许多生理过程的加强或抑制，往往取决于细胞内 cAMP 与 cGMP 浓度比例的改变。

近年来的研究表明，cGMP 在某些激素的生理调节过程中起着"第二信使"的作用，而且可使细胞内 cAMP 浓度提高的激素大多能使 cGMP 含量降低或不影响 cGMP 的量；反之，能减少细胞内 cAMP 含量的激素则多能提高或不影响 cGMP 的含量。例如胰岛素可使 cAMP 含量减少而使 cGMP 含量增加。

现在已从不少组织分离出需要 cGMP 的蛋白激酶。当 cGMP 含量增加时能促进需要 cGMP 蛋白激酶的活性，而含量降低时，又会激活需要 cAMP 蛋白激酶的活性。可能 cGMP 是通过本身浓度变化激活这两种不同蛋白激酶，而起到与 cAMP 拮抗的调节作用。

cGMP 在体内由鸟苷酸环化酶催化 GTP 脱磷酸环化而生成，被 cGMP 磷酸二酯酶所水解破坏。由于鸟苷酸环化酶大部分存在于细胞溶质中，而不象腺苷酸环化酶那样牢固结合在细胞膜上，因此激素的信号如何传递到该环化酶从而影响 cGMP 浓度目前还不清楚。

关于激素的作用原理是比较复杂的，近年来进行了大量的研究工作，但仅是一些初步实验和设想，还有待于进一步详细探索。

第二节　昆虫激素

昆虫激素种类很多，主要研究的是有关生长发育和变态的激素，包括脑激素(BH)、蜕皮激素(MH)和保幼激素(JH)三类。它们调节控制昆虫的蜕皮、变态、生殖腺发育等生理过程。

脑激素(简称 BH)是多肽或蛋白质激素，由脑的神经分泌细胞分泌，是控制其他两种激素分泌的促激素。蜕皮激素(简称 MH)是类固醇化合物，由蜕皮腺分泌。保幼激素(简称 JH)是带有环氧的类萜的酯类物质，由咽侧体分泌。现在已知的蜕皮激素主要有 α-和 β-两种，保幼激素有 I、II、III 三种。兹举 α-蜕皮激素和保幼激素 I 为例，说明其结构：

α-蜕皮激素

保幼激素 I

β-蜕皮激素与α-蜕皮激素结构相似,后者在侧链的C-20上β-羟化便成β-蜕皮激素。保幼激素I的中部乙基被甲基取代,便是保幼激素II;保幼激素I中的两个乙基均被甲基取代,便是保幼激素III。

一、生理作用

(1) 蜕皮激素的主要作用是控制昆虫变态,促使从幼虫变蛹以致成虫的变态。当与保幼激素一同存在时,它主要起蜕皮作用。

(2) 保幼激素的主要作用是调节发育和生殖,保持昆虫在生长过程中幼态的特征,阻止幼虫变态成蛹。因此,昆虫快到变蛹时期,就停止分泌保幼激素,至成虫期保幼激素则具有促使卵巢发育和促使性外激素分泌的作用。

二、在农业生产上的应用

1. 防治害虫

使用昆虫激素防治害虫,无环境污染等化学农药的缺点。作用原理是破坏昆虫体内激素系统的平衡,外加一定数量的激素会瓦解昆虫的正常生长、分化和变态等程序,造成畸形、不育、死亡等。在对昆虫激素防治害虫进行研究之后,发现它们在实际应用中有某些限制,如稳定性差、合成成本贵、JH只对近成虫期幼虫才有效而不适用于处在种种发育阶段的昆虫、MH不易透过昆虫表皮等,因此应用于害虫防治还需作进一步试验研究。目前一般认为使用昆虫激素防治害虫是综合防治中的重要方法之一。人工合成的保幼激素类似物效果大大超过天然激素,如二烯异丙酯等,对蚊虫幼虫有阻止正常变态等作用而引起大量死亡,是一种新类型的激素杀蚊药。

CH_3O

二烯异丙酯(增丝灵)

昆虫激素广泛存在于植物中。蕨类植物水龙骨、单子叶植物银杏等中有JH。罗汉松、桑等中有MH。故从植物提取很有希望。近年来有人从植物中发现了抗保幼激素,对若干半翅目昆虫有导致早熟变态和绝育的作用。由于昆虫在其生活史各阶段几乎都需JH,所以抗JH倒可能是更有效的杀虫剂。

此外在昆虫中还存在一种具有传递信息的化学物质即信息素,也有人称之为外激素。这种物质分泌到体外后,极微量就能影响同种昆虫的行为,有结集信息素、追迹信息素,性信息素等。其中研究得最多,应用前途较大的是性信息素,又称性外激素或性引诱剂,由腹部末端生殖孔附近的性外激素分泌腺所分泌,可应用于害虫的预测预报和防治。

使用性外激素诱杀害虫的方法有多种,如:

(1) 诱捕法　将虫体(一般是雌虫腹部末端)直接抽提的粗提物或人工合成的制剂盛于诱捕器内来诱捕害虫。对红铃虫进行的大田试验证明有明显的诱集效果,但对防止为害的效果尚在继续研究。也可和农药合用,引诱上钩后集中消灭之。

(2) 迷向法　当害虫在生殖活动期,在大田内撒布较大量性引诱剂,使扩散弥漫于作物

间。在田内活动并寻找异性个体的害虫由于无法辨认异性的方向，不能顺利交尾生殖，因而达到防治效果。目前这个方法已显示初步效果。

此外，尚可用于虫情预测预报。根据盛有性引诱剂的诱捕器诱捕到害虫的时间和每天的虫数，可预报害虫发生和发展的情况，作为防治措施的依据。

性外激素在鳞翅目中研究最多，化学结构大多是长链烯醇酯或长链环氧化合物。我国合成并应用的已有多种，如棉红铃虫性引诱剂等。几种性外激素的结构式如下：

$$\text{O}-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-CH_3$$

棉红铃虫性外激素

$$\text{O}-\overset{\overset{\displaystyle O}{\|}}{C}-CH_3$$

玉米螟性外激素

$$(CH_3)_2CH(CH_2)_4CH\text{---}CH(CH_2)_9CH_3 \quad (\text{epoxide } \diagdown O \diagup)$$

舞毒蛾性外激素

2. 蚕业上的应用

如将极少量的保幼激素类似物处理家蚕幼虫，可适当延长幼虫龄期使蚕体长得肥大，从而使体内的绢丝腺相应增大，其中转氨酶也有所增高，这也许是增加吐丝量的原因。蜕皮激素还能促使家蚕上簇整齐，节省人力。蜕皮激素和保幼激素联合应用于家蚕饲育，已取得明显的增产效果。上面介绍过的保幼激素类似物二烯异丙酯，可单独用于蚕业，具有增丝明显、上簇整齐等优点。而蜕皮激素只在桑叶短缺时使用，可促使上簇。目前应用激素养蚕已成为增产蚕丝的有效措施之一。

第三节 植物激素

植物的生长发育如发芽、生根、茎叶生长、开花、结果等，无不受植物内部的植物激素又称植物生长调节物质所调节和控制。已知与植物生长发育有密切关系的天然的植物激素有五大类：生长素、赤霉素、细胞分裂素（又称激动素）、脱落酸和乙烯。

一、生长素类

高等或低等植物体内普遍存在的天然生长素主要是指吲哚乙酸。其他人工合成的激素如萘乙酸、2, 4-二氯苯氧乙酸(2, 4-D)和4-碘苯氧乙酸(增产灵)等，在一定浓度范围内都能起类似生长素的作用，但在植物体内不存在。吲哚乙酸能促使细胞伸长、扩大、萌发、生根和结无籽果实等。幼苗的向光弯曲就是因为此物质集中在暗的一面，促使细胞伸长而造成的。愈是生长旺盛的部位，生长素含量愈高。在完全成熟的种子内生长素大部分和天冬氨酸、葡萄糖等物质形成结合状态而贮藏起来。在种子萌发时，再从胚乳或子叶转移到胚中，供给胚、幼根、幼芽生长的需要。用低浓度生长素类物质处理种子或块茎，一般具有促进萌发的作用。萘乙酸能促进菠萝提前开花，2, 4-D是激素型除草剂。

吲哚乙酸　　萘乙酸　　2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)　　4-碘苯氧乙酸(增产灵)

二、赤霉素类

赤霉素是一类化合物的总称，均含有赤霉烷。按分离出来的先后次序给予 A_1、A_2……的编号。最初从水稻恶苗病的病原菌中分离得到，至今已从高等植物及微生物中分离到三十多种不同的赤霉素。从水稻恶苗病菌的代谢产物中已分离出 15 种(A_1～A_4，A_7，A_9～A_{16}，A_{24}，A_{25})。高等植物体内已分离出 20 多种(A_1～A_9，A_{13}，A_{17}～A_{23}，A_{26}～A_{32})。植物体中赤霉素的含量甚微，例如 100 株向日葵幼苗中仅含 0.001 微克，从 44 吨的竹笋幼茎中只能得到 14 毫克。一般用培养水稻恶苗病菌以取得代谢产物的方法进行生产。我们平时使用最多的赤霉素为赤霉酸(A_3)，分子式为 $C_{19}H_{22}O_6$，是一元羧酸，活性最大，在体内以葡萄糖苷形式存在。

赤霉素 A_3(GA_3)　　赤霉烷　　GA_3 葡萄糖苷

赤霉素 A_4(GA_4)　　赤霉素 A_7(GA_7)　　赤霉素 A_{14}(GA_{14})

各种赤霉素有共同的基本骨架，称为赤霉烷，A_4，A_7，A_{14} 为活性较大的赤霉素。

赤霉素和生长素都具有促进细胞增大和伸长的作用，但二者的作用不完全相同，赤霉素对矮生植物具有明显的促进生长作用，能使它恢复到正常高度，而生长素则不能。一般来说赤霉素对根的生长没有作用，但它对生长素有辅助作用。赤霉素的作用方式是多方面的：促进茎叶生长，加速发育；打破休眠，促进萌发；促进果实生长，形成无籽果实；防止脱落等。农田使用得当，有一定的增产效果。此外，赤霉素可诱导 α-淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶等酶的合成，还能提高 DNA 聚合酶和 RNA 聚合酶的活性。

三、细胞分裂素类(激动素类)

是细胞生长和分化所必需的激素，主要功能是促进细胞的分化和分裂。最初是从青鱼

精液的 DNA 中分离出来的嘌呤衍生物，后来又从玉米种子中分离得到玉米素(一种天然的激动素类物质)，肯定了在植物中的存在。以后又人工合成具有激动素活性的物质，如6-苄基腺嘌呤。细胞分裂素能促进核酸和蛋白质合成，促进物质的调运，增加含氮量，能延迟和防止器官衰老。此类物质可以延长蔬菜、鲜花和番茄等果实的贮藏时间，能提高水稻、大麦、小麦产量。此外，细胞分裂素与生长素合用能有效地进行单倍体育种。

6-苄基腺嘌呤　　6-呋喃甲氨基嘌呤(激动素)　　玉米素

四、脱　落　酸

结构式如下：

脱落酸是本世纪六十年代由研究木本植物的冬季休眠和棉铃脱落而从一些木本植物和棉铃中分离得到的。主要作用是引起植物休眠和落叶，与赤霉素的作用相拮抗，抑制大麦粒中 α-淀粉酶的合成，还可增加苹果树幼苗的抗寒能力。

五、乙　　烯

是早已知道的一种与成熟有关的化合物，它促进果实成熟过程中蛋白质的合成。但因为是气体，对应用造成一定的困难，但现在已可人工合成一种叫2-氯乙基磷酸(即乙烯利)的化合物 $ClCH_2CH_2PO(OH)_2$，被植物吸收后可释放出乙烯，适于生产上应用，目前国内已成功地用于香蕉、柿子等果实的催熟，并提高橡胶产量。

六、其他植物激素

近年来，国内外又有一些新激素的报道，例如荸荠汁提取物具有明显的促进细胞分裂等作用，矮壮素(CCC)即氯化氯胆碱对防止小麦倒伏，提高产量有明显效果。

$$Cl-CH_2CH_2-\overset{\displaystyle CH_3}{\underset{\displaystyle CH_3}{N^+}}-CH_2Cl^-$$

植物激素虽然已在农业上广泛应用，并取得了一定的成效，但由于目前很多品种成本很高，并存在副作用及残毒问题，因此在应用上受到一定限制，需要进一步研究。

第九章　代谢总论

第一节　什么是新陈代谢

新陈代谢是生物最基本的特征之一，它包括生物体内所发生的一切分解和合成作用。恩格斯指出：生命与周围外部举行经常的物质交换，这是它的根本要点；这种物质交换如果停止，生命也就随之而停止。恩格斯所说的物质交换就是新陈代谢。生物一方面从环境中摄取养料，在体内通过一系列的化学变化，把养料同化为组成生物的种种物质，另一方面，组成物质又不断地分解，正象恩格斯指出的：生物在每一个瞬间是它自身，同时又是别的东西。生物体内的分解和合成作用一旦停止，生命活动就要停止。

细菌、霉菌等微生物在低温或干燥条件下所以能保藏较长时间，是因为在这样的条件下，代谢作用虽然没有完全停止，但十分微弱。而高等的动植物则不论在生命的那一个阶段中，都有明显的代谢作用，例如存放马铃薯的地窖、存放稻谷的粮仓中常常发出使人窒息的二氧化碳，说明它们都在进行新陈代谢，吸收氧气，放出二氧化碳。在整个生命过程中，合成和分解这一对矛盾始终在斗争着，体现了新和旧的斗争。在幼年时，合成取得支配地位，合成的速度大于分解的速度，生物进行生长发育；在成年时，合成和分解处于势均力敌状态，也就是合成的速度等于分解的速度；在老年时，分解取得支配地位，逐渐衰老，至于死亡。

生物体内错综复杂的化学变化，反映为生物的种种生理现象。例如呼吸作用主要是糖类物质在氧的参与下进行分解放出能量；生长则主要是核酸、蛋白质等物质合成的结果；运动时肌肉收缩则是由化学能（ATP）转变为动能的结果；光合作用是将光能转变为化学能（即合成糖类物质）的过程。象思维这样的高级神经活动实质上也是新陈代谢的一种表现形式。

总的来说，新陈代谢包括合成代谢（也称同化作用）和分解代谢（也称异化作用）。合成代谢指生物从内外环境中取得原料合成生物体的结构物质或具有生理功能的物质。从简单的物质转化为复杂物质的过程，总是需能的。分解代谢指生物体内一切分解作用，往往伴同着能量的释放。分解作用中释放的能量可供合成代谢的需要，分解作用中形成的小分子物质可为合成提供原料。

有人把研究代谢过程中能量的变化称为能量代谢。食物中的糖、脂肪、蛋白质三大类主要营养物质，在生物体内进行氧化时都能放出能量：

糖　类	4.1千卡/克
蛋白质	4.1千卡/克
脂　肪	9.3千卡/克

生物利用食物在体内氧化所产生的能量，来维持体温以及各种生理活动。人们可以根据具体生活情况确定膳食中三类物质的配比，以保证健康。例如对于婴儿或青少年，应多吃蛋白质食物，它既可作为蛋白质来源，又可提供能量；对于体力劳动较强的人应多吃糖类食物；

对于糖尿病患者则应控制糖类食物。

当人体处于极端安静时，即进食后12～14小时，一般在早餐前，静卧不动，保持清醒，维持各器官、组织活动(包括呼吸作用、血液循环、肠胃蠕动等)所需的能量以及散失的热量的总和，称为基础代谢。临床上通过测定基础代谢作为诊断某些疾病的参考。例如甲状腺亢进患者的基础代谢要比正常人高。由于生物的能量来源于食物的氧化，因此可以从每小时消耗的氧气乘以氧的卡价(即每升氧相当于多少卡的能量，平均以4.825千卡计)来计算基础代谢中所需要的能量。由于热量的散失与人体的表面积密切有关，因此基础代谢用卡/小时/平方米来表示。

第二节　新陈代谢的特点

新陈代谢的特点是:

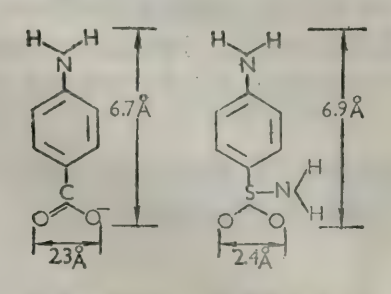
(1) 新陈代谢过程中所包含的化学反应往往不是一步完成，而是通过一系列的中间过程而完成的，反应数目虽多，但有其顺序性，各个反应之间又是相互配合，一环扣一环，有条不紊地进行着。

(2) 代谢作用在比较温和的条件下进行，因为极大多数反应是由酶所催化。

(3) 代谢作用具有灵敏的自动调节。

第三节　新陈代谢与生产实践

人们从实践中总结出新陈代谢的理论，又进一步指导实践，为实践服务。生物体内代谢过程的阐明对医疗事业、工农业生产的发展起着很大的作用。了解癌细胞的代谢过程之后，可以设计出有效的治癌药物，例如甲氨蝶呤、5-氟尿嘧啶作为治癌药物是由于它们能抑制癌细胞内的核酸合成(详见十五章)。对微生物代谢过程了解以后，可以设计出化疗药物，例如磺胺药制菌的机制是基于磺胺药对细菌合成维生素叶酸有抑制作用，对-氨基苯甲酸(PABA)是生物合成维生素叶酸的前体，磺胺类化合物的结构和PABA的结构相似，因此对PABA有竞争作用，能抑制细菌合成叶酸。



对-氨基苯甲酸　　对-氨基苯磺酰胺

此外，在发酵工业上，可以根据微生物的代谢途径，选出累积某种中间物的菌种进行生产，例如肌苷酸、赖氨酸等的发酵生产。由此可见，新陈代谢的研究与生产实践有着十分密切的联系。

第四节　研究新陈代谢的方法

关于代谢方面的研究工作，在最近三、四十年中有了飞跃的进展，这与仪器、方法的发明和改进密切有关，例如微量或超微量测定方法、分部离心技术、同位素示踪方法等都大大促进了代谢的研究。

研究代谢作用所用的生物材料可以是完整的生物，也可以是生物的某一器官、组织切片、组织匀浆或抽提出的酶等。下面略举几种常用的方法，有些具体的例子将在以后有关章节中再作详细解释。

(1) *饲养动物*　研究维生素缺乏症可以用饲喂动物的方法。饲料中缺乏某种维生素，若干天后观察发生的病变，然后再加入这种维生素，观察症状是否减退，从而确证这种维生素的功能。

(2) *测定呼吸商*(R. Q.)　可判断体内能量的来源。食物在体内氧化时消耗 O_2，释放出 CO_2。由于各种物质中所含 C、H、O 比例不同，因此释放出 CO_2 与消耗的 O_2 的比例也就不同，这个比例称为呼吸商。

$$呼吸商=\frac{CO_2\ 产生量(升)}{O_2\ 消耗量(升)}$$

糖类物质氧化分解时所产生的 CO_2 和所消耗的 O_2 是相等的，所以糖的呼吸商是 1，$C_6H_{12}O_6+6O_2 \longrightarrow 6CO_2+6H_2O$，$R.Q.=\frac{6CO_2}{6O_2}=1$；脂肪氧化分解时所产生的 CO_2 量比所消耗的 O_2 量要少，所以脂肪的呼吸商为 0.70；蛋白质的呼吸商为 0.80。

可见，呼吸商的大小与体内消耗什么物质有关。如果呼吸商接近于 1，则表示体内能量来源主要是糖类物质。糖尿病患者，不能很好利用葡萄糖，能量来源就偏重于脂肪，呼吸商偏低，接近于 0.70；在长期饥饿情况下，人体能量大部分来自本身的脂肪和蛋白质的分解，呼吸商接近于 0.80。正常人的能量，来自混合食物，呼吸商约为 0.85～0.90。

瓦氏呼吸器是一种测定微量气体变化的仪器，可以测定微生物或组织切片、组织匀浆中气体的微小变化，用来研究包含有气体变化的生化反应，从而了解细胞内具有哪种酶系、催化什么反应、代谢作用的程序等。

四十到五十年代中，瓦氏呼吸器用在研究微生物代谢上较多。目前味精发酵工业上仍用瓦氏呼吸器测定发酵液中谷氨酸的含量。将谷氨酸脱羧酶作用于发酵液中的谷氨酸，便有 CO_2 释放出来，测定 CO_2 的体积，便可计算出谷氨酸的含量。用这个方法，比用纸层析法定量测定谷氨酸所需的时间短，便于及时掌握罐内发酵情况。

(3) *观察先天性代谢疾病患者的不正常代谢情况*　有些人患有先天性代谢疾病，在他们体内某一代谢中间产物往往因为不能进一步的利用而排出体外，从这种不正常的排泄物可以推测那一个生化反应中断，从而了解正常的代谢过程(具体例子见苯丙氨酸代谢)。

(4) *应用微生物的生化突变型*　受到人类先天性代谢疾病研究的启发而发展起来的微生物生化遗传学，解决了好几种氨基酸的代谢过程(具体例子见含硫氨基酸代谢)。

(5) *切除器官*　如用切除动物胰脏来研究糖尿病，切除肝脏研究含氮化合物的代谢。这个方法在内分泌研究上应用特别多，例如切除脑下垂体、肾上腺、性腺等。

(6) *应用器官或组织作离体试验* 用血液或其他液体灌注一个活的器官，把要研究的某一物质加入到灌注液中，观察该物质所起的变化。例如将丙氨酸灌注入肝，丙酮酸的量增加，说明肝细胞有脱氨基的作用。

应用组织切片、组织匀浆、组织抽提液等都可以作为酶的来源，观察它们是否可以催化某种特殊反应，便可以推测其代谢过程。

(7) *组织培养* 在了解了细胞或组织生长所必需的生长因子的基础上，可以使细胞或组织在含一定成分的合成培养基上生长繁殖而得到纯的无性繁殖系，这一技术叫做组织培养。应用这种技术，人或动物细胞也可以象微生物材料一样，用来进行生物化学或遗传学等方面的研究。

(8) *抑制酶活力* 正常生活的细胞内，由于代谢作用持续地向前进行，中间产物的浓度往往很低，不易分析，只有在先天性代谢疾病患者以及微生物的营养突变型内中间产物才能累积。但是如果在正常细胞的环境中加入某种专一性的酶抑制剂，也可以使中间物累积起来，这样就便于分析(具体例子见酵解过程中用的碘乙酸和氟化钠)。

(9) *同位素示踪法* 要知道糖、蛋白或脂肪等物质在生物体内究竟发生了什么变化，经过哪些中间产物，应用同位素示踪法是一个最好的办法。例如我们研究葡萄糖的代谢途径时，即使分析出细胞内有丙酮酸存在，我们还不能十分肯定地认为丙酮酸是葡萄糖的中间产物，因为丙氨酸经过转氨作用后也可以产生丙酮酸。只有用了标记的葡萄糖后，从细胞中检出标记的丙酮酸，才能确认丙酮酸是葡萄糖的中间产物。

早在1904年，有人用苯基取代的脂肪酸研究脂肪酸的代谢过程，因为苯基在动物体内不易氧化，带有苯基的脂肪酸的最后产物在尿中排出，于是可以追踪脂肪酸的代谢途径，这是用示踪物质来研究代谢作用最早的尝试。但是这个方法还有缺点，脂肪酸的化学性质可能由于苯基而稍有不同，因此最理想的是用一个类似的原子来代替化合物中的原子，而这整个化合物的化学性质并不发生改变，这个代入的原子又必须是易于检查的。于是在三十年代有人发明了应用放射性或稳定同位元素的方法来研究代谢作用。这个方法现在已经成为研究代谢作用和分子生物学的有力工具。

原子是由原子核和核外电子所组成。原子核中含有质子和中子，质子的数目和核外电子的数目相等。原子序数所表示的是该原子中质子的数目或者核外电子的数目。同位素是指原子序数相同而原子量不同的几种元素。原子序数相同就是说它们在周期表内所占的地位是相同的，它们核内的质子数和核外电子数都是相同的，但中子数不同，于是它们的原子量就不相同。元素的化学性质主要是由核外电子所决定，所以几种同位素的化学性质是一样的，但物理性质不相同。

同位素可分为两类：

1) 稳定同位素：它们的核不会自己发生变化，例如原子量为2的重氢(又称为氘，以符号 ^{2}H 或 D 表示)。在生物化学上常用的稳定同位素除重氢外，还有 $^{15}_{7}N$, $^{13}_{6}C$, $^{18}_{8}O$ 等。这些同位素都存在于自然界，但量很少，可以用质谱仪定量测定。自然界中存在的几种同位素的比例如下：

$$^{1}H/^{2}H=99.98/0.02$$

$$^{14}N/^{15}N=99.63/0.37$$

$$^{12}C/^{13}C=98.9/1.1$$

$$^{16}O/^{18}O=99.8/0.2$$

2) 放射性同位素：这类同位素的核能够自己发生变化，放出带有电荷的粒子或不带电荷的射线。例如 $^{14}_{6}C$ 和 $^{32}_{15}P$ 能放出 β-粒子，$^{60}_{27}Co$ 和 $^{131}_{53}I$ 放出 β-粒子和 γ 射线，这几种都是生物化学上常用的同位素。根据放射性同位素能放出带电荷的粒子或射线的特性，可以用专门的仪器来测定，例如用盖氏计数管计数或使照相底片感光。由于放射性同位素的分析方法更为灵敏而又方便，因此这类同位素在生物学上的应用较之稳定性同位素更广。

表 9-1 为实验室和生产上常用的同位素的放射性以及它们的半衰期。

表 9-1　生物化学研究中常用的同位素

同位素	放射性	半衰期
$^{2}_{1}H$	无	—
$^{3}_{1}H$	β^-	12.5 年
$^{13}_{6}C$	无	—
$^{14}_{6}C$	β^-	5100 年
$^{15}_{7}N$	无	—
$^{32}_{15}P$	β^-	14.3 天
$^{35}_{16}S$	β^-	88 天
$^{131}_{53}I$	β^-, γ	8 天
$^{59}_{26}Fe$	β^-, γ	47 天

在生化工作中，应用放射性同位素比应用稳定的同位素有利些，因为测定的方法比较灵敏，但是如果应用放射性过强的化合物，则对机体有损伤的可能，使代谢行为改变，因此必须用最少量的示踪化合物。在应用放射性同位素时，还应注意选择半衰期适当的元素，如果半衰期太短，对工作进行不利。

此外，还必须注意所用的同位素不能与周围分布较广的同位素之间有交换。例如氨基酸中的氨基如用重氢 (D) 标记，那么这重氢原子就可以与液体内的氢离子发生交换。

$$RND_3^+ + 3H^+ \rightleftharpoons RNH_3^+ + 3D^+$$

因此在研究氨基酸的氨基代谢时，不采用重氢示踪。

临床上常应用 ^{131}I 的碘化物确证甲状腺机能亢进。给甲状腺机能亢进可疑的患者服 ^{131}I 的碘化物，^{131}I 迅速被甲状腺吸收，并转化为甲状腺素一类含碘有机物。甲状腺机能亢进的患者吸收 ^{131}I 的速度远较正常人为高。反之，甲状腺机能衰退的患者吸收 ^{131}I 的速度比正常人为低(图 9-1)。

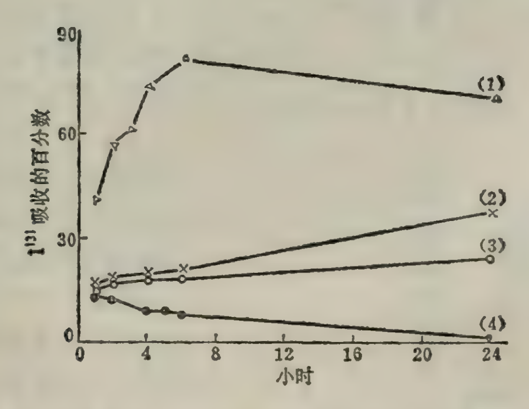


图 9-1　甲状腺机能亢进患者(1)、甲状腺机能衰退患者(4)、正常人(2, 3)对 ^{131}I 的吸收

(10) 分部离心技术的应用　应用分部离心技术，可以将细胞内的各种细胞器分开，用各个不同的分部来研究其中所进行的代谢作用，可以深入了解各个分部的独特的功能（表9-2）。

表 9-2　破碎的肝细胞中各组分在分部离心时的分布

分　　部	*所需的离心力×g	离心时间	包含的酶或其他活性
细胞碎片、核、膜	1000～6000	10 分钟	核酸合成
线粒体	10,000～15,000	30 分钟	有关电子传递系统，氧化磷酸化，三羧酸循环，脂肪酸氧化，氨基酸氧化，尿素合成，脂肪酸延长
溶酶体、微管碎片、过氧化物酶体	15,000～20,000	30 分钟	水解酶，形成和分解 H_2O_2 的酶
微粒体（包括核糖体和与内质网连系在一起的核糖体）	100000	60 分钟	蛋白质合成，羟化系统，磷酸酯酶，固醇合成，固醇还原酶等
可溶性部分			酵解系统，HMP 系统，糖元合成，糖元分解，脂肪酸合成，嘌呤、嘧啶分解代谢，氨基酰合成酶，转氨酶等

* 离心力的大小往往用相对离心力来表示。例如 $6000\times g$ 的意义即是 6000 倍于重力的离心力。相对离心力与转速的换算公式为

$$RCF = \text{相对离心力} = 1.119\times10^{-5}\times n^2\times r$$

式中　n=每分钟转动次数，r=离心机头的半径。

近二十年来发明和发展的密度梯度离心法，对于分子生物学的研究尤其是一种重要的技术。密度梯度离心法可以用来鉴别密度差异极为细微的几种大分子物质，最早曾用于鉴别含 ^{15}N 和 ^{14}N 的 DNA，从而肯定了 DNA 的复制是半保留式的（详见第十五章）。

第十章　糖类的分解代谢

根据生物利用什么样的物质——有机物或无机含碳化合物——作为碳源和能源，可以分为异养生物和自养生物两大类。人、动物和某些微生物属于异养生物，他们都需要从环境中摄取有机物质作为养料提供碳源和能源。糖类物质是作为碳源和能源的。糖在生物体内经过一系列的分解作用后，便释放出大量的能量，供生命活动之用。糖在分解过程中形成的某些中间产物又可作为合成蛋白质、脂肪等物质的碳架。例如葡萄糖的中间产物丙酮酸可以转化为丙氨酸，作为合成蛋白质的原料。丙酮酸又可以转化为乙酰辅酶A，从乙酰辅酶A可以合成高级脂肪酸，高级脂肪酸是合成脂肪的原料。

绿色植物和某些含叶绿素的微生物属于自养生物，他们利用 CO_2 作为碳源，日光作为能源，因此不需要从环境中摄取糖类物质作为能源，这类自养生物称为光能自养型。另外还有一些自养微生物，不含叶绿素，不能利用日光作为能源，而是通过氧化无机物而获得能量，碳源则仍为 CO_2，这类自养生物称为化能自养型。

绿色植物虽属于自养生物，但它们的种子在萌发时，还没有形成叶绿素，不能进行光合作用，只能利用种子内储藏的淀粉（或储藏的脂肪、蛋白）分解，提供能量和碳源。

第一节　糖的消化

淀粉是人类和某些高等动物的主要食物。淀粉在口腔内经唾液中的 α-淀粉酶（糊精化淀粉酶）的作用，转化为糊精和少量的麦芽糖。但是由于食物在口腔中停留的时间不长，所以唾液所起的作用不大。唾液淀粉酶被食物包围成团，进入胃之后，一时还不易被胃酸作用而失活，因此在胃中还能继续起一些作用。胃所分泌的胃蛋白酶对淀粉完全没有作用，尚未分解的淀粉和糊精进入小肠后受到来自胰腺的胰淀粉酶（也是 α-淀粉酶）的继续作用，最后全部分解为麦芽糖和葡萄糖。

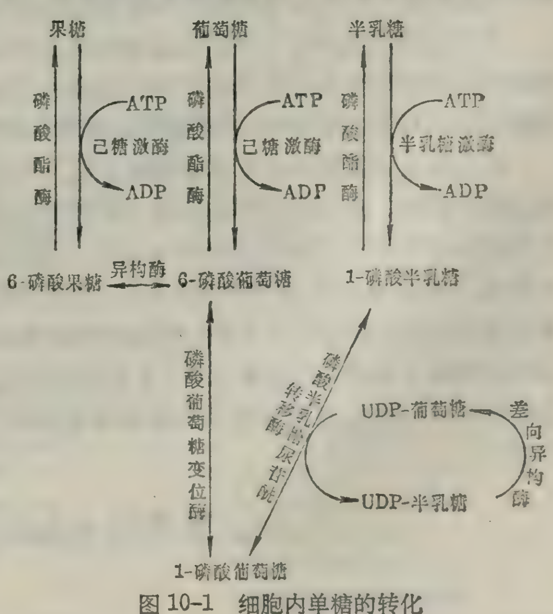


图 10-1　细胞内单糖的转化

肠粘膜细胞中有蔗糖酶、乳糖酶和麦芽糖酶，但并不分泌到肠腔中，因此食物中的蔗糖（其中一部分在酸性的胃液中不需酶的作用已能分解，产物为果糖和葡萄糖）、乳糖和麦芽糖都是在肠粘膜细胞中进行水解，水解后的单糖进入血液循环，输送到全身各个器官和组织中去。

细胞内的葡萄糖、半乳糖、果糖等在酶的催化下，通过磷酸酯的形式，可以相互转化(图10-1)。

培养异养微生物时一般可以用单糖或双糖，某些能够产生淀粉酶的微生物，可以用淀粉作为碳源及能源，例如柠檬酸发酵工业中用富含淀粉的山芋粉。淀粉酶从微生物细胞内分泌出来，将培养基内的淀粉分解为简单的糖，然后吸收到细胞内去。酵母菌不产生淀粉酶，因此不能直接利用淀粉。工业上用酵母菌发酵法制造乙醇时，往往用山芋粉作原料，不过必须用富有淀粉酶的黑曲霉菌先将淀粉分解后再行利用。

含淀粉的高等植物种子(如稻、麦等)或块茎(如马铃薯)发芽时，种子或块茎内的淀粉酶活力大大增加，将淀粉分解为简单的糖，供种子发育。

第二节　单糖进入细胞后的分解过程

自然界中绝大多数生物都必须在有氧气的环境中才能生活，人和动物都需要吸入新鲜空气，通过血液循环把吸进的氧气输送到身体各部的组织里去，然后又通过血液循环将组织里的 CO_2 送到肺部，呼出体外。绿色植物和多数微生物也都需要氧气才能维持生命，氧参与糖类物质(和脂肪等)的分解作用。CO_2 便是分解作用的产物，同时放出了大量的能量。

葡萄糖在生物体内彻底分解的总过程如下式所示：

$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O \qquad -\Delta F = 686{,}000 \text{ 卡}$$

生物将1克分子的葡萄糖完全氧化生成 CO_2 和水时，产生了686,000卡的自由能($-\Delta F$)。所谓自由能是指能够做有用的功的能量。生物化学上常把糖的有氧分解过程称为有氧呼吸，有时也称呼吸作用。

自然界中也有少数生物，或生物的某些组织，可以在缺氧或暂时缺氧的环境中生活。在这种情况下，糖虽然也可以分解释放出能量，但分解不完全，停留在二碳物或三碳物的中间状态，放出的能量，大大少于在有氧条件下所释放的。在生物化学上常把糖的无氧分解过程称为无氧呼吸。高等动物的肌肉和酵母菌是能够进行无氧呼吸的典型例子。

高等动物的肌肉可以在暂时缺氧的状态下收缩。例如在剧烈运动时，氧的供应不足，肌肉收缩所需的能量是由肌肉细胞内的糖通过无氧分解所提供，分解产物是乳酸。糖类物质在肌肉内进行无氧呼吸，形成乳酸的过程称为酵解。

酵母菌在缺氧的条件下也能缓慢生长，它们生活所需的能量是由糖分解为乙醇和 CO_2 的过程中获得。酵母菌中所进行的无氧呼吸和肌肉中进行的无氧呼吸略有不同。生物化学上将酵母菌中的无氧呼吸过程称为发酵。发酵这名词的最初意义是指产生气泡(有 CO_2 气体发生)，现在发酵的涵义已经扩大了，在微生物工业上把所有通过微生物的培养生产某一种代谢产物的过程都称为发酵。例如从微生物生产乙醇、谷氨酸(味精)、肌苷酸、丙酮、丁醇及抗菌素等工业都称为发酵工业，不管这些微生物在培养时是否需要氧气。事实上培养产生谷氨酸、肌苷酸、抗菌素等微生物时都需要氧气，制造丙酮、丁醇时则需要在无氧的条件下进行。

一、葡萄糖无氧分解的化学过程

1. 酵母菌的乙醇发酵

无论在酿酒、制造乙醇或是用鲜酵母发馒头时，形成乙醇和 CO_2 的过程并不是一步完成的，而是历经由酶催化的十多步反应而完成。

图 10-2 表示酵母菌在无氧情况下分解葡萄糖的全部过程。总反应如下：

$$\underset{\text{葡萄糖}}{C_6H_{12}O_6} \longrightarrow 2\underset{\text{乙醇}}{C_2H_5OH} + 2CO_2$$

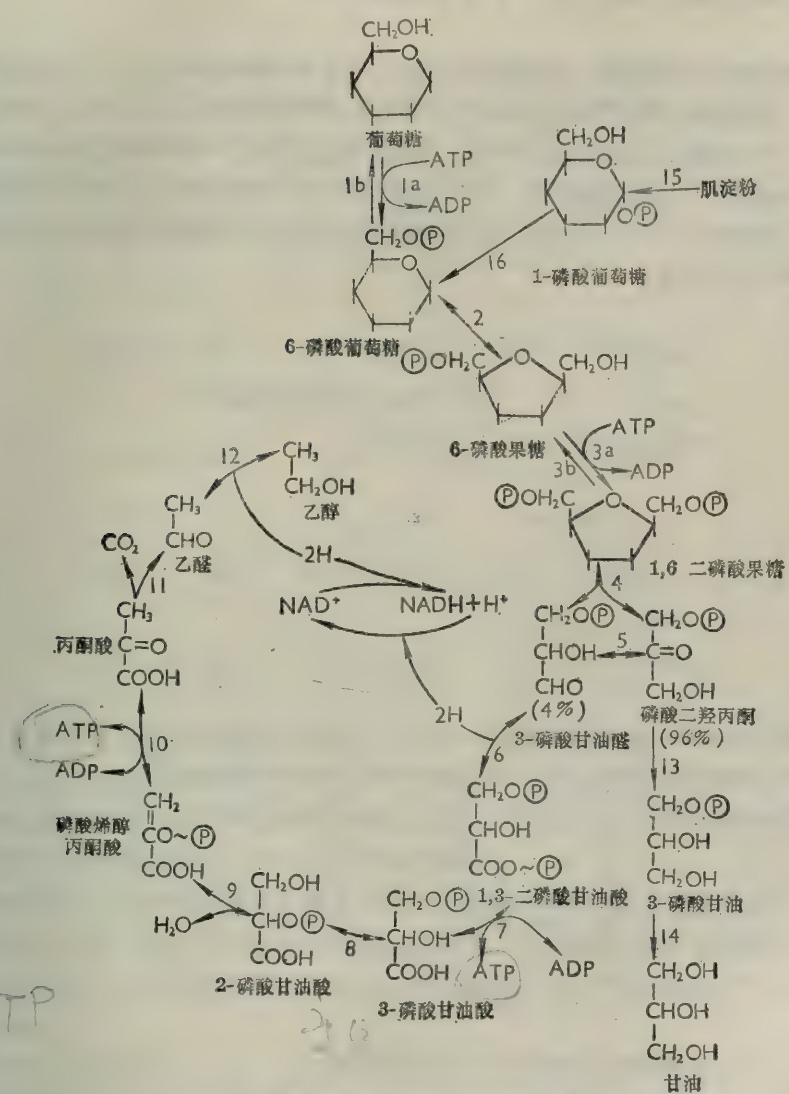


图 10-2　酵母菌无氧呼吸过程

参与发酵过程的酶

1a．已糖激酶	5．磷酸丙糖异构酶	11．丙酮酸脱羧酶
1b．6-磷酸葡萄糖酯酶	6．磷酸丙糖脱氢酶	12．醇脱氢酶
2．磷酸葡萄糖异构酶	7．磷酸甘油酸激酶	13．α-磷酸甘油脱氢酶
3a．磷酸果糖激酶	8．磷酸甘油酸变位酶	14．磷酸甘油酯酶
3b．1,6-二磷酸果糖酯酶	9．烯醇酶	15．淀粉磷酸化酶
4．醛醇缩合酶	10．丙酮酸激酶	16．磷酸葡萄糖变位酶

葡萄糖通过12步反应，最后形成乙醇和 CO_2 并放出能量。这12步反应大致上可以归纳为三个阶段:

(1) 葡萄糖磷酸化形成糖的磷酸酯——包括反应1、2、3。

(2) 磷酸己糖分解为二个三碳糖——反应4。

(3) 三碳糖通过脱氢、脱羧、还原等反应形成乙醇——包括反应5、6、7、8、9、10、11、12。

反应1: 葡萄糖进入细胞后，先经磷酸化作用，生成6-磷酸葡萄糖。这个反应需要供给能量才能进行。能量的来源是细胞内原有的 ATP(三磷酸腺核苷)。ATP 是一种高能化合物，分子内有二个高能键，当这种键分解时，所释放的能量要比一般的磷酸键分解的能量大二倍以上。这种能量可以供生物利用。ATP 分解为 ADP 和磷酸时，分解了分子内的一个高能键，释放出大约12,000卡自由能。而其他磷酸化合物，如磷酸甘油分解为甘油及磷酸时，仅放出2,350卡自由能。

$$\underset{\text{磷酸甘油}}{CH_2OH-CHOH-CH_2-O-P(=O)(OH)-OH} \xrightarrow{H_2O} \underset{\text{甘油}}{CH_2OH-CHOH-CH_2OH} + H_3PO_4 + 2,350\ \text{卡}$$

$$\underset{\text{ATP}}{\text{腺嘌呤—核糖—}CH_2O-P(=O)(OH)-O\sim P(=O)(OH)-O\sim P(=O)(OH)-OH} \xrightarrow{H_2O}$$

$$\underset{\text{ADP}}{\text{腺嘌呤—核糖—}CH_2O-P(=O)(OH)-O\sim P(=O)(OH)-OH} + H_3PO_4 + 12,000\ \text{卡}$$

表 10-1　几种不同性质的化学键水解时释放的自由能

键	结构	自由能
酯键	$R—\overset{O}{\overset{\|}{C}}\vdots O—R'$	2,000～4,000 卡
	$R—O\vdots PO_3H_2$	2,000～4,000 卡
肽键	$R—\overset{O}{\overset{\|}{C}}\vdots NH—R'$	3,000 卡
焦磷酸	$R—\overset{O}{\overset{\|}{\underset{OH}{\underset{\|}{P}}}}—O\sim\overset{O}{\overset{\|}{\underset{OH}{\underset{\|}{P}}}}—R'$	12,000 卡
磷酸胍	$R—NH—\overset{NH}{\overset{\|}{C}}—NH\sim PO_3H_2$	14,000 卡
磷酸烯醇	$H_2=\overset{R}{\overset{\|}{C}}—O\sim PO_3H_2$	16,000 卡
硫酯	$R—\overset{O}{\overset{\|}{C}}\sim SR'$	16,000 卡
硫磷酸	$R—S\sim PO_3H_2$	约 16,000 卡

葡萄糖和 ATP 在已糖激酶的催化下，生成 6-磷酸葡萄糖和 ADP。6-磷酸葡萄糖分子上的磷酸酯键并不是高能磷键。因为从 ATP 分解为 ADP 时所释放的 12,000 卡能量并没有全部转移到6-磷酸葡萄糖的酯键上，而是放出了一部分能量，这部分能量散失为热。这也就是酵母菌在发酵的过程中，温度会上升的原因之一。

已糖激酶在各种生物的细胞内普遍存在。高等动物细胞内的已糖激酶可以催化葡萄糖、果糖的磷酸化作用，形成相应的 6-磷酸酯。这是由于有几种同功的已糖激酶，它们分别对葡萄糖或果糖表现不同的催化活力，例如在肝脏细胞内的已糖激酶是一种对葡萄糖更为专一的已糖激酶。

已糖激酶只能催化正反应。6-磷酸葡萄糖如要变成葡萄糖则要通过另一个酶——6-磷酸葡萄糖酯酶——的催化，方能进行。

$$\text{6-磷酸葡萄糖} \xrightarrow{\text{6-磷酸葡萄糖酯酶}} \text{葡萄糖} + H_3PO_4$$

反应 2：是一个异构化反应。6-磷酸葡萄糖通过磷酸葡萄糖异构酶的作用，生成 6-磷酸果糖。这个酶也可以催化逆反应。

反应 3：与反应 1 相似。从 6-磷酸果糖生成 1，6-二磷酸果糖的反应也是一个需能反应。所需的能量仍是由细胞中原来储藏的 ATP 所提供。这个反应由磷酸果糖激酶所催化。这个酶也只能催化正反应。逆反应是由 1，6-二磷酸果糖酯酶所催化。

反应 4: 1, 6–二磷酸果糖通过醛醇缩合酶(或简称醛缩酶)的催化，分解为磷酸二羟丙酮和 3–磷酸甘油醛。醛缩酶也可以催化逆反应。

1, 6–二磷酸果糖分解为二个三碳糖是用了酶的抑制剂研究出来的。将葡萄糖或任何一个磷酸己糖中间物和酵母提取液以及碘乙酸 (ICH_2COOH) 一起保温，可以分离出少量的 3–磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮。这是由于碘乙酸抑制了反应 6 的磷酸丙糖脱氢酶，使磷酸丙糖不能被进一步分解而累积起来，便于分离鉴定。这是应用了酶抑制剂分析代谢中间产物的一个例子。

通过以上四步反应，1 分子葡萄糖分解为 2 分子三碳糖。

反应 5: 磷酸二羟丙酮和 3–磷酸甘油醛可以通过磷酸丙糖异构酶的催化而相互转化。

反应 6: 3–磷酸甘油醛被磷酸丙糖脱氢酶所催化，进行脱氢作用，在磷酸的参与下生成 1, 3–二磷酸甘油酸。脱下的氢则由细胞内的辅酶 I(辅酶 I 可简写 CoI 或 NAD^+, 或 DPN^+) 所接受，形成还原状辅酶 I(还原状辅酶 I 可简写作 CoI·2H 或 $NADH + H^+$ 或 $DPNH + H^+$)。在这脱氢过程中产生的能量集中在磷酸和羧基结合成的酸酐键上，形成高能磷酸键。磷酸丙糖脱氢酶分子上有巯基(—SH)，在反应过程中，巯基也参与反应。

$$NAD^+ + \begin{matrix} CH_2O\text{Ⓟ} \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHO \end{matrix} + HS\text{—酶} \rightleftharpoons \begin{matrix} CH_2O\text{Ⓟ} \\ | \\ CHOH \\ | \\ O{=}C\text{—}S\text{—酶} \end{matrix} + NADH + H^+$$

$$\begin{matrix} CH_2O\text{Ⓟ} \\ | \\ CHOH \\ | \\ O{=}C\text{—}S\text{—酶} \end{matrix} + H_3PO_4 \rightleftharpoons \begin{matrix} CH_2O\text{Ⓟ} \\ | \\ CHOH \\ | \\ COO\sim\text{Ⓟ} \\ \text{1, 3-二磷酸甘油酸} \end{matrix} + \text{酶—SH}$$

反应 7: 1, 3–二磷酸甘油酸通过磷酸甘油酸激酶的催化，将能量转移到 ADP 分子上，以 ATP 的形式储藏起来。这个反应也是可逆的。由于 1 分子葡萄糖可以分解为 2 分子三碳糖，所以反应 7 中生成的 ATP 应为 2 分子。

反应 8: 3–磷酸甘油酸通过磷酸甘油酸变位酶的催化，生成 2–磷酸甘油酸。这个反应也是可逆的。反应中有 2, 3–二磷酸甘油酸中间物形成。用 ^{32}P 示踪，认为反应过程是这样的:

$$\begin{matrix} \text{酶-磷酸} \\ + \\ \text{3-磷酸甘油酸} \end{matrix} \rightleftharpoons \begin{matrix} \text{酶} \\ + \\ \text{2, 3-二磷酸甘油酸} \end{matrix} \rightleftharpoons \begin{matrix} \text{酶-磷酸} \\ + \\ \text{2-磷酸甘油酸} \end{matrix}$$

反应 9: 2–磷酸甘油酸通过烯醇酶的催化作用，脱去 1 分子水，生成磷酸烯醇丙酮酸。在这个反应过程中分子内部的能量经过重新分布，集中到磷酸键上，形成一个高能键。这个反应也是可逆的。

如果将磷酸丙糖或二磷酸果糖加入到含有氟化物的酵母提取液中，就有磷酸甘油和磷酸甘油酸累积，磷酸甘油酸是 2–磷酸甘油酸和 3–磷酸甘油酸的平衡混合物。这是由于氟化物对烯醇酶有抑制作用，反应 9 不能畅通，所以有 2–磷酸甘油酸累积。由于 2–磷酸甘油酸过多，于是反应 8 的速度也要减慢下来，因此 3–磷酸甘油酸的浓度也要比正常时来得多。由于反应 9 被抑制，细胞内就没有乙醛形成，也就没有 $NADH + H^+$ 的受氢体，于是从反应

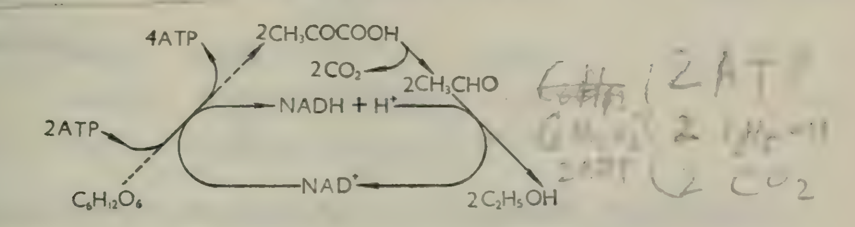
6 中脱下的氢通过 α-磷酸甘油脱氢酶的作用还原磷酸二羟丙酮，所以有磷酸甘油形成。

反应 10：磷酸烯醇丙酮酸通过丙酮酸激酶的催化作用，将分子上的高能磷键转移到 ADP 分子上，形成 ATP 储藏起来。反应 10 的另一产物是丙酮酸。这个反应理论上虽是可逆的，但基本上是向前进行的，因此葡萄糖的合成不可能通过这个逆反应而完成。

反应 11：丙酮酸经丙酮酸脱羧酶的催化，脱去 CO_2，生成乙醛。在这个反应中，还需要焦磷酸硫胺 (TPP) 作为辅酶。焦磷酸硫胺是维生素 B_1（即硫胺）的衍生物，生物如果缺乏 B_1，糖的代谢就要发生障碍。这个反应不可逆。

反应 12：乙醛通过醇脱氢酶的催化，接受了还原辅酶 I 上的氢，还原成为乙醇。还原辅酶 I($NADH + H^+$)是在反应 6 中生成的。这个反应是可逆的。

酵母菌在没有氧气的条件下，通过以上 12 步反应，1 分子葡萄糖可以分解成 2 分子乙醇、2 分子 CO_2 和 2 分子 ATP。整个过程可用下面的简图来表示。



酵母菌的乙醇发酵过程总结：

(1) 从葡萄糖分解为乙醇的过程中，并无氧气参加，是一个无氧呼吸过程。

(2) 过程中有脱氢反应，脱下的氢由辅酶 I 携带，但细胞中辅酶的量是极少的，已被还原的辅酶 I($NADH+H^+$)必须经过某种方式将所带的氢除去，方能再接受脱氢反应中的氢。酵母菌在无氧的情况下，$NADH + H^+$ 是通过与乙醛反应而重被氧化的。

(3) 从葡萄糖变成乙醇和 CO_2，用去了 2 分子 ATP(反应 1, 3)，但在反应 7 和 10 中生成了 4 分子 ATP，所以净的结果是生成 2 分子 ATP。

(4) 实际上葡萄糖分解为乙醇和 CO_2 时释放的全部能量比形成二个高能磷键所需的能量(2×12,000 卡)要大，这些能量到哪里去了呢？能量是不会消灭的，这部分能量以热能的形式释放出来。在酿酒的时候或是在畜牧业上制造糖化饲料的时候，温度都会自动上升，这也说明糖在无氧分解时有热散发出来。这种热能虽然不能直接参与细胞内的需能反应，但可以维持体温，使体内的反应速度加快，促进新陈代谢。

(5) 发酵过程中某些反应需要辅酶或辅助因子参加。如反应 6 和反应 12 需要辅酶 I；反应 11 需要焦磷酸硫胺。辅酶 I 和焦磷酸硫胺都是由维生素组成。由此可见，不仅人类或高等动物需要维生素，即使是最简单的微生物，它们体内许多反应也需要有维生素参与，只不过有些生物能从简单的养料(如糖和无机含氮化合物)自己合成，而人和高等动物则自己不能制造，必须从食物中取得已经合成好的维生素。但也不是所有低等的生物都能自己合成维生素而不需要外界供给，例如产生柠檬酸的黑曲霉虽然也有需要维生素的生化反应，但在培养时不必供给维生素，因为黑曲霉可以自己合成。但培养酵母菌时则必须供给几种 B 族维生素，因为酵母菌自己不能合成这几种维生素，面包酵母需要生物素和泛酸作为生长因子。那么酵母片为什么可以作为补充维生素的营养药物呢？这是因为酵母菌从培养基里吸收并储藏了这些维生素的缘故。因此在培养一些需要这几种 B 族维生素的微生物时

(也包括酵母菌在内)，可以用酵母膏作为维生素的来源。

2. 酵母菌的甘油发酵

酵母菌在无氧条件下所生成的乙醇是由乙醛获得了氢而形成的。如果改变条件，使乙醛这个中间物不存在，那么酵母菌就不会产生乙醇了。例如在发酵液中加入亚硫酸氢钠($NaHSO_3$)，乙醛就与 $NaHSO_3$ 生成一个加成物($CH_3\underset{\displaystyle OH}{\underset{|}{C}}HOSO_2Na$)。这个加成物失去了乙醛原有的性质，不能再接受氢。但由于酵母菌有 α-磷酸甘油脱氢酶，通过这个酶的催化，从反应 6 脱下的氢($NADH+H^+$)可以与磷酸二羟丙酮化合，生成 α-磷酸甘油，α-磷酸甘油水解便生成甘油，这就是工业上用酵母菌发酵法制备甘油的理论依据。在不加亚硫酸氢钠时，磷酸二羟丙酮也可作为还原辅酶 I 的氢受体，形成磷酸甘油，因此正常的酵母菌也有极少量的甘油生成。

$$\begin{array}{l}CH_2O\text{Ⓟ}\\ |\\ C{=}O\\ |\\ CH_2OH\end{array} + NADH + H^+ \longrightarrow \begin{array}{l}CH_2O\text{Ⓟ}\\ |\\ CHOH\\ |\\ CH_2OH\end{array} \longrightarrow \begin{array}{l}CH_2OH\\ |\\ CHOH\\ |\\ CH_2OH\end{array}$$

除亚硫酸氢钠外，亚硫酸钠也可以和乙醛生成加成物，从而使酵母菌产生甘油。

$$Na_2SO_3 + H_2O + CH_3CHO \longrightarrow CH_3{-}\begin{array}{c}H\\ |\\ C\\ |\\ OSO_2Na\end{array}{-}OH + NaOH$$

使酵母菌产生甘油的另一个方法是将发酵液调节到碱性，乙醛在碱性溶液里发生歧化反应，生成 1 分子乙醇和 1 分子乙酸。

$$2CH_3CHO + NaOH \longrightarrow CH_3COONa + C_2H_5OH$$

从反应 6 生成的还原辅酶 I($NADH + H^+$)没有了乙醛作为正常的受氢体，于是通过磷酸甘油脱氢酶的催化还原磷酸二羟丙酮，生成磷酸甘油。

3. 肌肉内糖的无氧分解

人或动物在剧烈运动时，很容易造成肌肉细胞暂时缺氧的状态，但肌肉仍能收缩。这是由于肌肉在无氧时也能分解糖类物质，放出一部分能量(ATP)。肌肉细胞内的糖类物质除游离的葡萄糖外，还有肌淀粉。肌肉运动时利用葡萄糖或肌淀粉作为能源。肌肉里有淀粉磷酸化酶，可以将肌淀粉分解为 1-磷酸葡萄糖。通过磷酸葡萄糖变位酶的作用，1-磷酸葡萄糖可以转化为 6-磷酸葡萄糖。从 6-磷酸葡萄糖又可以逐步转化直到变为丙酮酸。这个变化过程和酵母菌中发生的完全一样。肌肉中还有一种乳酸脱氢酶，催化丙酮酸还原为乳酸，氢的来源仍旧是反应 6 所脱下的。肌肉在剧烈运动时有乳酸累积，在得到充分的氧气时(休息时)细胞内累积的乳酸可以重新转变为丙酮酸，进一步彻底氧化，或者循着逆反应的过程，重新合成肌淀粉储藏起来。

肌肉里经常保持着少量的 ATP，它是肌肉收缩的最直接的能量来源。通过肌肉里的 ATP 酶催化，ATP 分解为 ADP 和能量。

$$ATP \xrightarrow{\text{ATP酶}} ADP + Pi + \text{能量}$$

HOH$_2$C　HOH$_2$C　HOH$_2$C　HOH$_2$C　HOH$_2$C

肌淀粉

H_3PO_4 ↓ 淀粉磷酸化酶

HOH$_2$C — O—Ⓟ ＋ HOH$_2$C　HOH$_2$C　HOH$_2$C　HOH$_2$C

1-磷酸葡萄糖

↓ 磷酸葡萄糖变位酶

ⓅOH$_2$C

6-磷酸葡萄糖 ·········→ $CH_3COCOOH$ ⟶ $CH_3CH(OH)COOH$

丙酮酸　乳酸

不在运动的肌肉里 ATP 的量是很少的，每克哺乳动物肌肉中大约只含有 5×10^{-6} 克分子 ATP，但在运动时每克肌肉每秒钟则大约需要 10^{-3} 克分子 ATP。这个矛盾由肌肉里的其他高能键化合物来解决，这些高能化合物可以很快地补充 ATP。在脊椎动物的肌肉中普遍存在的是磷酸肌酸，约含 20×10^{-6} 克分子。在无脊椎动物肌肉中则为磷酸精氨酸。当能量有盈余时则可通过下列反应储藏在磷酸肌酸或磷酸精氨酸分子内。

$$HN{=}C(NH{\sim}P)\,N(CH_3)CH_2COOH + ADP \xrightleftharpoons{\text{肌酸激酶}} HN{=}C(NH_2)\,N(CH_3)CH_2COOH + ATP$$

磷酸肌酸　　　　肌　酸

$$HN{=}C(NH{\sim}P)\,NH(CH_2)_3CHNH_2COOH + ADP \xrightleftharpoons{\text{精氨酸(磷酸)激酶}} HN{=}C(NH_2)\,NH(CH_2)_3CHNH_2COOH + ATP$$

磷酸精氨酸　　　　精氨酸

不但肌肉和酵母菌的无氧呼吸过程十分相象，高等植物中也能找到酵母菌无氧呼吸过程中的各个中间产物。高等植物也能将六碳糖发酵生成二氧化碳和乙醇。例如马铃薯的汁液、胡萝卜的汁液都能将糖发酵生成二氧化碳和乙醇。

由此可见，从形态看来，各种生物之间的差异很大，但是它们所进行的代谢作用都是大同小异，不但在糖代谢中是这样，脂肪、蛋白、核酸等的代谢过程也有同样的情况。这说明在生物形态进化之前，生化反应的进化大多早已完成。

在研究肌肉和酵母菌中糖的无氧分解过程中，Embden、Mayerhof、Parnas 等人贡献较大，因此后人将葡萄糖的无氧分解过程简称为 EMP 途径。

二、葡萄糖有氧分解的化学过程

1. 三羧酸循环途径

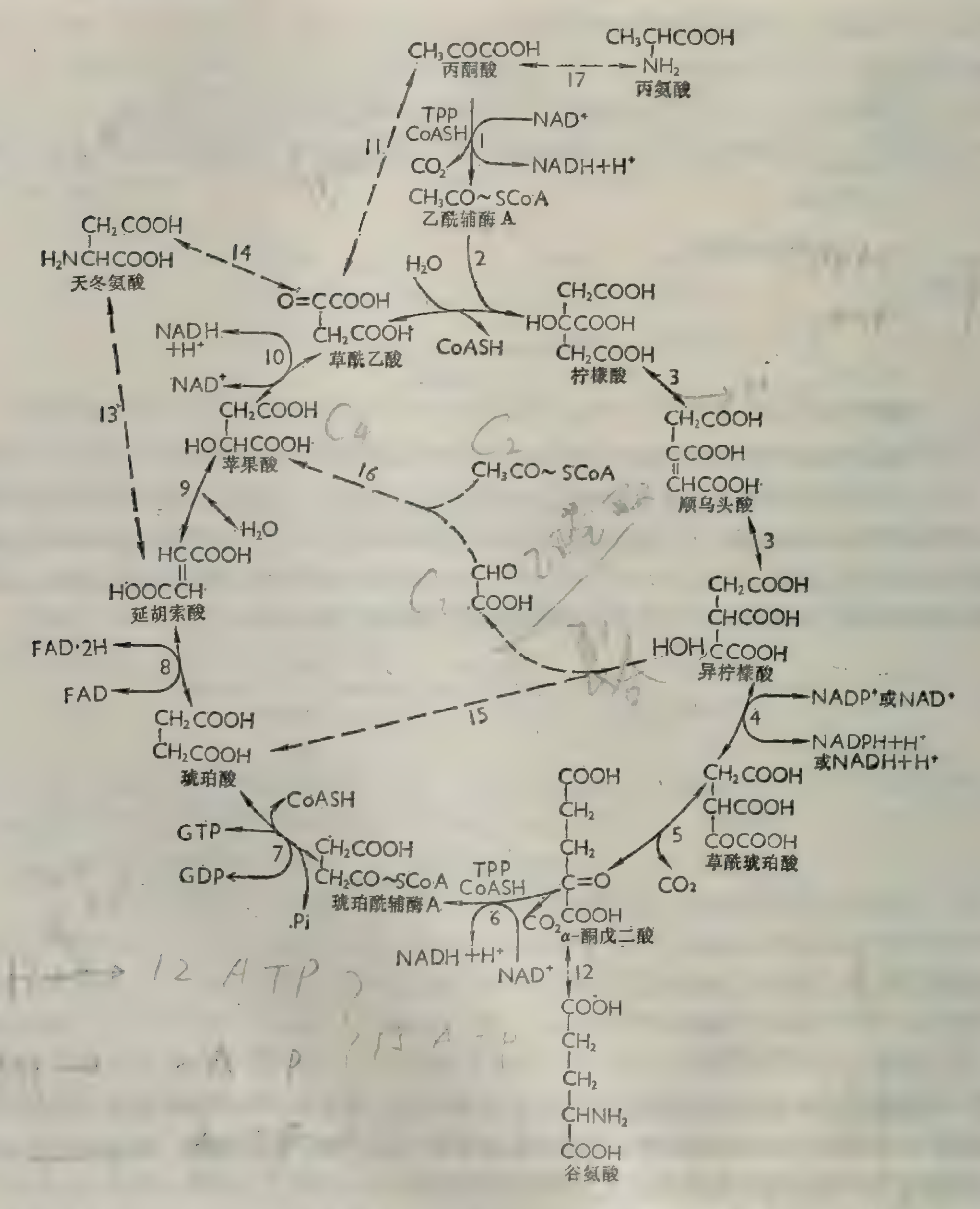


图 10-3　三羧酸循环和乙醛酸循环

1. 丙酮酸脱氢酶　2. 柠檬酸合成酶　3. 顺乌头酸酶　4、5. 异柠檬酸脱氢酶　6. α-酮戊二酸脱氢酶　7. 琥珀酸硫激酶　8. 琥珀酸脱氢酶　9. 延胡索酸酶　10. 苹果酸脱氢酶　11. 丙酮酸羧化酶　12. 转氨酶　13. 天冬氨酸酶　14. 转氨酶　15. 异柠檬酸裂合酶　16. 苹果酸合成酶

三羧酸循环途径是葡萄糖有氧分解的一种方式。它是无氧分解过程的继续。通过三羧酸循环途径的有氧分解包括三个环节：(1) 葡萄糖分解为丙酮酸。(2) 丙酮酸的脱氢脱羧作用和三羧酸循环。(3) 脱下的氢的去路(呼吸链)。从葡萄糖到丙酮酸的阶段和无氧分解完全一样。丙酮酸以后的过程才不同于乙醇发酵或酵解。丙酮酸通过 10 步反应彻底分解为 H_2O 和 CO_2，放出大量的能(图 10-3)。实验证明，不论在动物、植物或微生物中都存在三羧酸循环。

反应 1：丙酮酸通过丙酮酸脱氢酶的催化，生成乙酰辅酶 A。丙酮酸脱氢酶实际上是一个复杂的酶系，包括丙酮酸脱羧酶、二硫辛酸转乙酰酶、二氢硫辛酰胺脱氢酶等酶以及 NAD^+、CoASH、TPP、硫辛酸等四个辅助因子。反应过程如下：

(1) $CH_3COCOOH + TPP \xrightarrow{\text{丙酮酸脱羧酶}}$ α-羟乙基硫胺焦磷酸 $+ CO_2$

α-羟乙基硫胺焦磷酸(简写作 $CH_3CHO \cdot TPP$)

(2) $CH_3CHO \cdot TPP$ + 硫辛酰胺 $\longrightarrow$ 乙酰硫辛酰胺 + TPP

硫辛酰胺　　乙酰硫辛酰胺

(3) 乙酰硫辛酰胺 $+ CoASH \longrightarrow CH_3CO\sim SCoA$ + 二氢硫辛酰胺

(2)，(3) 反应是由二硫辛酸转乙酰酶所催化。这个酶分子中的赖氨酸残基上的 ε-氨基和二硫辛酸形成酰胺。硫辛酰胺分子式中的 $—NHR_L$ 代表：

$—NH(CH_2)_4CHCO$——酶蛋白（CH 与 NH 相连：赖氨酸）

赖氨酸

(4) 二氢硫辛酰胺 $+ FAD^+ \xrightarrow{\text{二氢硫辛酰胺脱氢酶}}$ 硫辛酰胺 $+ FAD \cdot 2H$

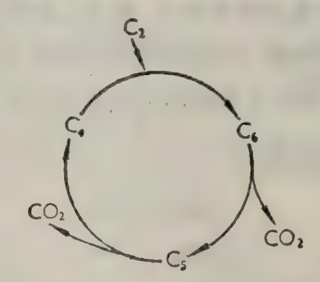
(5) $FAD \cdot 2H + NAD^+ \longrightarrow FAD + NADH + H^+$

总反应可简写作

$$CoASH + CH_3COCOOH + NAD^+ \longrightarrow CH_3CO\sim SCoA + NADH + H^+ + CO_2$$

这个脱氢反应中产生的能量储藏在乙酰辅酶 A 分子中，形成乙酰辅酶 A 中的高能键。从丙酮酸生成的乙酰辅酶 A 除了进入三羧酸循环彻底分解外，还为生物体内需要乙酰化的物质提供乙酰基，例如谷氨酸变为乙酰谷氨酸，氨基糖变为乙酰氨基糖等反应。

反应 2：乙酰辅酶 A (C_2 物）和细胞里原有的草酰乙酸（C_4 物）通过柠檬酸合成酶（也称缩合酶）的催化作用生成柠檬酸（C_6 物）。柠檬酸再经脱氢和脱羧作用生成五碳物（C_5）、四碳物（C_4）。生成的 C_4 又和新的乙酰辅酶 A 结合生成新的 C_6，这样便形成一个循环。



乙酰辅酶 A 通过这个循环，脱下氢并放出 CO_2。这个循环中有几个含有三个羧基的化合物，因此被称为三羧酸循环（简称 TCA），也称柠檬酸循环（图 10-3）。

柠檬酸合成酶所催化的正反应为强烈的放热反应，所以这个反应的方向主要为合成，合成过程中所需的能量由 $CH_3CO\sim SCoA$ 所提供。乙酰辅酶 A 参与反应时是由乙酰辅酶 A 的甲基端和草酰乙酸进行反应（式 1），这和通过羧基端进行反应的乙酰化作用有所不同（式 2）。

(1)
$$H_2O + \underset{\text{草酰乙酸}}{\begin{array}{l} O{=}C{-}COOH \\ \quad | \\ \quad CH_2COOH \end{array}} + \overset{\circ}{C}H_3\overset{\times}{C}OSCoA \longrightarrow \underset{\text{柠檬酸}}{\begin{array}{l} \qquad\quad \overset{\circ}{C}H_2\overset{\times}{C}OOH \\ \qquad\quad | \\ HO{-}C{-}COOH \\ \qquad\quad | \\ \qquad\quad CH_2COOH \end{array}} + CoASH$$

(2)
$$\underset{\text{谷氨酸}}{\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}} + \overset{\circ}{C}H_3\overset{\times}{C}OSCoA \longrightarrow \underset{\text{乙酰谷氨酸}}{\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CHNH\overset{\times}{C}O\overset{\circ}{C}H_3 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}} + CoASH$$

在某些生物中存在柠檬酸分解酶，专门催化柠檬酸分解为乙酸和草酰乙酸。

反应 3：柠檬酸通过异构化作用生成异柠檬酸。催化这个反应的酶为顺乌头酸酶，在 Fe^{++}、还原型谷胱甘肽或半胱氨酸存在时，活性最大。顺乌头酸酶可以催化柠檬酸变为顺乌头酸（脱水），顺乌头酸变为异柠檬酸（加水）。柠檬酸、顺乌头酸和异柠檬酸等三个中间物在平衡混合物中以柠檬酸所占百分比最大，约 90% 左右。虽然如此，由于生物细胞需要能量，所以整个循环仍是向分解方向进行。

反应 4：异柠檬酸通过异柠檬酸脱氢酶的作用，脱氢脱羧形成 α-酮戊二酸。动物组织内含有两种类型的异柠檬酸脱氢酶。一种是以 NAD^+ 作为辅酶、由 Mg^{++} 所激活，存在于线粒体内。另一种是以 $NADP^+$ 为辅酶，由 Mn^{++} 所激活，存在于细胞质内。动物组织的

三羧酸循环中异柠檬酸的脱氢作用主要是由 NAD^+ 专一的酶所催化。

反应 5：草酰琥珀酸脱去 CO_2 生成 α-酮戊二酸。这个反应也是由异柠檬酸脱氢酶所催化，这个酶兼具脱氢和脱羧两种活性。

反应 6：α-酮戊二酸通过 α-酮戊二酸脱氢酶(实际上是一个复杂的酶系)的催化，生成琥珀酰辅酶 A。参与这反应的辅酶有 NAD^+、CoASH、TPP、硫辛酸等，反应机制也和反应 1 一样。脱氢反应中产生的能量储藏在琥珀酰辅酶 A 中。

反应 7：琥珀酰辅酶 A 通过琥珀酸硫激酶的催化生成琥珀酸，并将高能键转到 GDP 上形成 GTP。

$$\begin{array}{l} CH_2COOH \\ | \\ CH_2CO\sim SCoA \end{array} + H_3PO_4 + GDP \rightleftharpoons \begin{array}{l} CH_2COOH \\ | \\ CH_2COOH \end{array} + GTP + CoASH$$

此外，琥珀酰辅酶 A 还可以通过琥珀酰辅酶 A 水解酶的作用分解为琥珀酸和辅酶 A。

反应 8：琥珀酸通过琥珀酸脱氢酶的作用生成延胡索酸。琥珀酸脱氢酶是一种黄素蛋白，含有辅基 FAD 和非血红素铁。琥珀酸上脱下的氢由 FAD 接受，成为还原型的琥珀酸脱氢酶。

反应 9：延胡索酸通过延胡索酸酶的催化作用与 H_2O 反应生成苹果酸。

反应 10：苹果酸通过苹果酸脱氢酶的作用生成草酰乙酸，受氢体为 NAD^+。

以上 10 步反应中除 1、6 为不可逆外，都有或大或小的可逆性。

反应 11：丙酮酸羧化为草酰乙酸，草酰乙酸脱羧生成丙酮酸。这个反应中 CO_2 可以在没有光照的条件下生成有机物(在有光的条件下，CO_2 生成有机物的过程称为光合作用)，因此也称为 CO_2 的暗固定。经过深入的研究，认为在鸽肝中暗固定可以通过多种途径而完成：

(1) 先由苹果酸酶所催化，进行还原羧化作用，生成苹果酸，然后再通过苹果酸脱氢酶的催化生成草酰乙酸：

$$CO_2 + CH_3COCOOH + NADPH + H^+ \rightleftharpoons \begin{array}{l} OH \\ | \\ CHCOOH \\ | \\ CH_2COOH \end{array} + NADP^+$$

$$\updownarrow NAD^+$$

$$\begin{array}{l} O{=}CCOOH \\ \quad | \\ \quad CH_2COOH \end{array}$$

(2) 由丙酮酸羧化酶催化：

$$CH_3COCOOH + CO_2 + ATP \longrightarrow \begin{array}{l} COCOOH \\ | \\ CH_2COOH \end{array} + ADP + Pi$$

和这个反应密切有关的是由磷酸烯醇丙酮酸羧激酶所催化的草酰乙酸的脱羧作用：

$$\begin{array}{l} COCOOH \\ | \\ CH_2COOH \end{array} + GTP \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2{=}CCOOH \\ \qquad\;\; | \\ \qquad\;\; OP \end{array} + GDP + CO_2$$

它和反应(2)联合起来是葡萄糖异生作用中丙酮酸逆向形成磷酸烯醇丙酮酸的途径。

三羧酸循环的总过程是乙酸氧化的过程，乙酸氧化的理论方程式为：

$$CH_3COOH + 4[O] \longrightarrow 2CO_2 + 2H_2O \quad (1)$$

乙酸通过三羧酸循环放出 4 对氢（反应 4, 6, 8, 10），吸收 2 分子 H_2O（反应 2, 9），净结果为：

$$CH_3COOH + 2H_2O \longrightarrow 8H + 2CO_2 \quad (2)$$

如将式(2)的两边各加 4 [O] 时，则所得结果完全和理论方程式(1)符合。

$$CH_3COOH + 2H_2O + 4[O] \longrightarrow 8H + 4[O] + 2CO_2$$

即

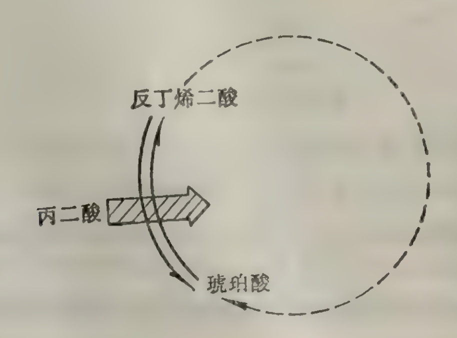
$$CH_3COOH + 2H_2O + 4[O] \longrightarrow 4H_2O + 2CO_2$$

亦即

$$CH_3COOH + 4[O] \longrightarrow 2H_2O + 2CO_2$$

三羧酸循环不仅是生物氧化葡萄糖的一个重要途径，而且也具有重要的合成意义。三羧酸循环的中间物如 α-酮戊二酸、草酰乙酸为合成相应的氨基酸（谷氨酸、天冬氨酸，见反应 12、14）的碳架。此外，反丁烯二酸也可以通过天冬氨酸酶催化，接上氨基形成天冬氨酸。谷氨酸、天冬氨酸脱氨或转氨后的碳架也要通过三羧酸循环而彻底氧化。脂肪分解后的产物脂肪酸经 β-氧化作用形成的乙酰辅酶 A，也要经过三羧酸循环而彻底氧化。因此三羧酸循环是联系蛋白质、脂肪、糖代谢的枢纽。

研究代谢途径的中间产物是什么，可以用这样的方法，就是将推测的代谢中间产物来培养生物，观察能否利用，从而提出可能的代谢途径。人们对三羧酸循环就曾经采用这样的方法进行研究。鸽胸肌用葡萄糖作为呼吸底物时，加入柠檬酸可以加速呼吸作用。柠檬酸、异柠檬酸、顺乌头酸和 α-酮戊二酸本身也都可以被鸽胸肌所氧化。这些现象说明柠檬酸等都可能是中间代谢物。再从另外一些现象又证明这些中间物形成一个循环：在有氧时，从反丁烯二酸或草酰乙酸转变为琥珀酸的过程，不受丙二酸的抑制，直到加入的底物（即反丁烯二酸或草酰乙酸）全部用完后（全部转变为琥珀酸）呼吸作用方才停顿。早已知道琥珀酸脱氢酶的活力是可以被丙二酸抑制的，但为什么仍有琥珀酸生成，说明琥珀酸除了可以从反丁烯二酸直接形成外，另外还有一条途径可以从反丁烯二酸间接形成。这就为“循环”提供了有力的证据。



2. 乙醛酸循环途径

在微生物及植物细胞内除有三羧酸循环的各种酶以外，还具备另外两种酶——异柠檬酸裂合酶和苹果酸合成酶。异柠檬酸可以通过异柠檬酸裂合酶的催化作用分解为琥珀酸和

乙醛酸。乙醛酸可通过苹果酸合成酶的催化作用与乙酰辅酶 A 结合生成苹果酸。异柠檬酸跳过了反应 4、5、6、7，走了短路。在三羧酸循环途径中，1 分子异柠檬酸分解，只能产生 1 分子 C_4 物，而在乙醛酸循环中 1 分子异柠檬酸可以产生 1.5 分子 C_4 物。

乙醛酸循环的生物学意义可以认为是对三羧酸循环起着协助的作用。因为在乙醛酸循环中 C_4 物合成是有盈余的，因此可以弥补三羧酸循环中由于 C_4 物的缺乏而引起 C_2 物不能被充分氧化的缺陷。特别是对于不能进行丙酮酸羧化反应（反应 11）的生物，以 C_2 物（乙酸或乙醇）作为唯一碳源培养微生物时，由于没有 C_3，因此不能从 C_3 来合成 C_4，就必须由乙醛酸循环来辅助三羧酸循环，因为乙醛酸循环可以提供较多的 C_4 以保证 C_2 的氧化。

早在 1920 年，有人认为微生物所以能够用乙酸作为唯一碳源，是由于 2 分子乙酸脱氢后直接生成 1 分子琥珀酸。

$$2\,CH_3COOH + \frac{1}{2}O_2 \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2COOH \\ | \\ CH_2COOH \end{array} + H_2O$$

直到五十年代证明了苹果酸合成酶和异柠檬酸裂合酶的存在后，才对上述反应有了深入的认识，即乙酸是通过乙醛酸循环而形成 C_4 物的。

$$\begin{array}{rl}
\text{乙酸} + \text{草酰乙酸} \longrightarrow & \text{柠檬酸} \\
\text{柠檬酸} \longrightarrow & \text{异柠檬酸} \\
\text{异柠檬酸} \longrightarrow & \text{琥珀酸} + \text{乙醛酸} \\
\text{乙酸} + \text{乙醛酸} \longrightarrow & \text{苹果酸} \\
\text{苹果酸} + \frac{1}{2}O_2 \longrightarrow & \text{草酰乙酸} \\
\hline
\text{净反应}\quad 2\,\text{乙酸} + \frac{1}{2}O_2 \longrightarrow & \text{琥珀酸}
\end{array}$$

从这个例子可以说明，如果把细胞内的酶抽提出来，并进行纯化，然后在离体条件下重建该酶所催化的反应系统，也是研究代谢途径的一种方法。

3. 磷酸戊糖途径

动物、植物或微生物细胞中葡萄糖的分解，多数是先通过糖酵解途径（或简称 EMP 途径）分解为 2 分子丙酮酸，然后再通过三羧酸循环进行有氧分解。有些生物或某些生物的某些组织中，葡萄糖可以不通过酵解途径直接分解形成 NADPH。

经过深入的研究证明，这条代谢途径是通过一系列复杂的变化而完成的，其中包含有 C_4、C_5、C_7 等磷酸糖酯中间产物。这条代谢途径称为磷酸戊糖途径（或称磷酸己糖支路，简写作 HMP 支路）。

HMP 支路的主要特点是葡萄糖直接脱氢和脱羧，不必先经过三碳糖的阶段。因此这个途径中既不包含 EMP 途径，也不包含三羧酸循环。HMP 支路的另一个特点是只有辅酶 II 参与反应。

HMP 支路中的复杂变化（图 10-4）可以分析为两个阶段：(1) 葡萄糖经脱氢脱羧等作用形成五碳糖；(2) 五碳糖重新合成六碳糖。第一阶段中包括三个反应（1、2、3），即磷酸化（反应 1）、脱氢（反应 2）和脱氢脱羧（反应 3）。第二阶段包括 9 个反应（4～12），主要

通过转羟乙醛基酶和转二羟丙酮基酶的作用，将五碳糖重新合成六碳糖后再重复上述的循环。

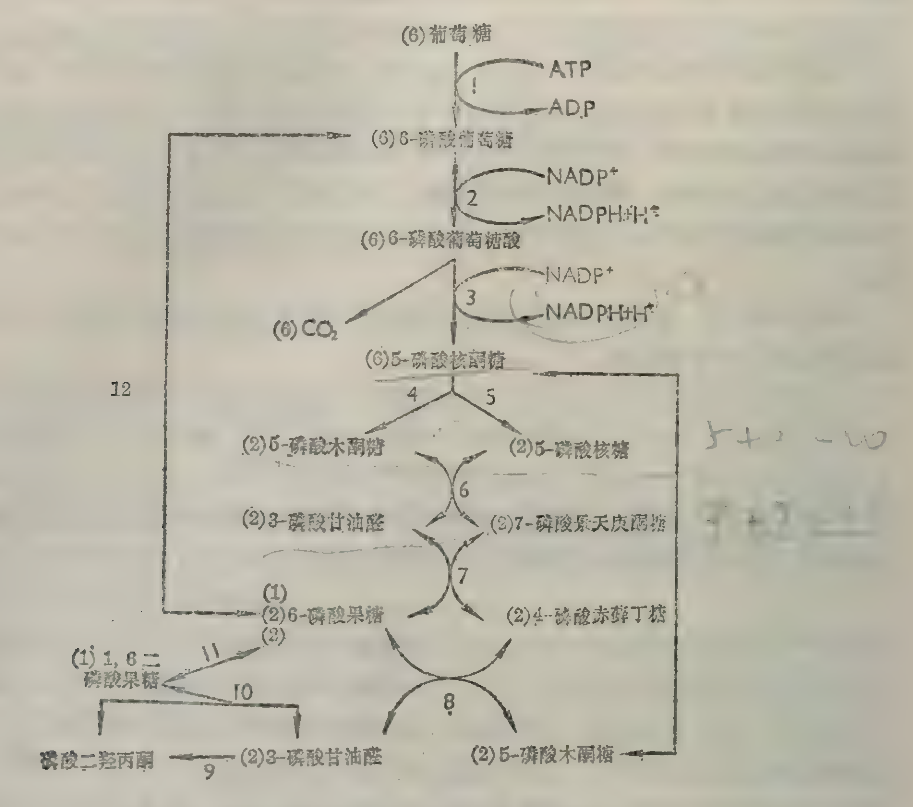


图 10-4　磷酸戊糖途径(括号内数字表示分子数)

1. 己糖激酶　2. 6-磷酸葡萄糖脱氢酶　3. 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶　4. 5-磷酸木酮糖差向异构酶　5. 5-磷酸核糖异构酶　6. 转羟乙醛基酶　7. 转二羟丙酮基酶　8. 转羟乙醛基酶　9. 磷酸丙糖异构酶　10. 醛缩酶　11. 磷酸果糖酯酶　12. 磷酸葡萄糖异构酶

为了便于解释，我们假定开始时有 6 分子葡萄糖，通过 1、2、3 三个反应，产生 6 分子 C_5 糖和 6 分子 CO_2。6 分子 C_5 糖经过异构化作用(反应 4、5)形成 4 分子 5-磷酸木酮糖和 2 分子 5-磷酸核糖。2 分子 5-磷酸核糖和 2 分子 5-磷酸木酮糖通过反应 6 形成 2 分子 C_3 糖(3-磷酸甘油醛)和 2 分子 C_7 糖(7-磷酸景天庚酮糖)。这两个中间产物通过反应 7 继续作用生成 2 分子 C_6 糖(6-磷酸果糖)。2 分子 C_4 糖和另外 2 分子 5-磷酸木酮糖通过反应 8 又生成 2 分子 C_6 糖和 2 分子 C_3 糖(3-磷酸甘油醛)。2 分子 3-磷酸甘油醛又通过反应 9、10、11 形成 1 分子 C_6 糖。因此从开始时的 6 分子 C_6 糖，通过这一系列反应转化成 5 分子 C_6 糖和 6 分子 CO_2，总的碳数没有增减。

这个过程中净变化可用下面的简式来表示：

$$6\,ATP + 6C_6 \longrightarrow 6\,CO_2 + 5\,C_6 + 12\,NADPH + H^+$$

或

$$6\,ATP + C_6 \longrightarrow 6\,CO_2 + 12\,NADPH + H^+$$

HMP 支路中的各个反应式如下：

(1)

$$
\begin{array}{c}
\begin{array}{l} \text{CHO} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ -\text{C} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{OH} \\ \text{葡萄糖} \end{array}
\end{array}
+ \text{ATP} \xrightarrow{\text{己糖激酶}}
\begin{array}{l} \text{CHO} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ -\text{C} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{6-磷酸葡萄糖} \end{array}
+ \text{ADP}
$$

(2)

$$
\begin{array}{l} \text{CHO} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ -\text{C} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{6-磷酸葡萄糖} \end{array}
+ \text{NADP}^+ \underset{}{\overset{\text{6-磷酸葡萄糖脱氢酶}}{\rightleftharpoons}}
\begin{array}{l} \text{COOH} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ -\text{C} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{6-磷酸葡萄糖酸} \end{array}
+ \text{NADPH} + \text{H}^+
$$

(3)

$$
\begin{array}{l} \text{CCOH} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ -\text{C} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{6-磷酸葡萄糖酸} \end{array}
+ \text{NADP}^+ \overset{\text{6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶}}{\rightleftharpoons}
\begin{array}{l} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{5-磷酸核酮糖} \end{array}
+ \text{NADPH} + \text{H}^+ + \text{CO}_2
$$

(4)

$$
\begin{array}{l} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{5-磷酸核酮糖} \end{array}
\overset{\text{5-磷酸木酮糖差向异构酶}}{\rightleftharpoons}
\begin{array}{l} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ -\text{C} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{5-磷酸木酮糖} \end{array}
$$

(5)

$$
\begin{array}{l} \text{CH}_2\text{OH} \\ | \\ \text{C}=\text{O} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{5-磷酸核酮糖} \end{array}
\overset{\text{5-磷酸核糖异构酶}}{\rightleftharpoons}
\begin{array}{l} \text{CHO} \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{C}- \\ | \\ \text{CH}_2\text{O}\textcircled{P} \\ \text{5-磷酸核糖} \end{array}
$$

(6)

$$\underset{\text{5-磷酸木酮糖}}{\begin{matrix}CH_2OH\\ |\\ C{=}O\\ |\\ -C\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} + \underset{\text{5-磷酸核糖}}{\begin{matrix}CHO\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} \xrightleftharpoons{\text{转羟乙醛基酶}} \underset{\text{7-磷酸景天庚酮糖}}{\begin{matrix}CH_2OH\\ |\\ C{=}O\\ |\\ -C\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} + \underset{\text{3-磷酸甘油醛}}{\begin{matrix}CHO\\ |\\ CHOH\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}}$$

(7)

$$\underset{\text{7-磷酸景天庚酮糖}}{\begin{matrix}CH_2OH\\ |\\ C{=}O\\ |\\ -C\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} + \underset{\text{3-磷酸甘油醛}}{\begin{matrix}CHO\\ |\\ CHOH\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} \xrightleftharpoons{\text{转二羟丙酮基酶}} \underset{\text{6-磷酸果糖}}{\begin{matrix}CH_2OH\\ |\\ C{=}O\\ |\\ -C\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} + \underset{\text{4-磷酸赤藓丁糖}}{\begin{matrix}CHO\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}}$$

(8)

$$\underset{\text{5-磷酸木酮糖}}{\begin{matrix}CH_2OH\\ |\\ C{=}O\\ |\\ -C\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} + \underset{\text{4-磷酸赤藓丁糖}}{\begin{matrix}CHO\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} \xrightleftharpoons{\text{转羟乙醛基酶}} \underset{\text{3-磷酸甘油醛}}{\begin{matrix}CHO\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2O℗\end{matrix}} + \underset{\text{6-磷酸果糖}}{\begin{matrix}CH_2OH\\ |\\ C{-}O\\ |\\ -C\\ |\\ C-\\ |\\ C-\\ |\\ CH_2OP\end{matrix}}$$

HMP 支路代谢在动物、微生物中都已经证明确实存在，但所占的百分数比通过 EMP 途径（加上 TCA）要少得多。HMP 支路在植物中普遍存在，有时可占 50% 以上。动物肌肉中糖的氧化几乎完全是通过 EMP 途径；肝脏内则 90% 通过 EMP 途径。但乳腺、睾丸、脂肪组织、肾上腺皮质以及白细胞进行吞噬作用时，大部分葡萄糖的分解是通过 HMP 支路的。干旱可以使玉米根 HMP 支路增强，受伤的和感染病毒的植物组织也有这种情况。小麦叶片被感染锈病之后，HMP 支路增强。除莠剂 2, 4-二氯苯氧乙酸（简称 2, 4-D）对豌豆、玉蜀黍、燕麦等幼苗处理之后，幼苗的呼吸增强，HMP 支路也相对增强。

HMP 支路代谢可以为核酸合成提供戊糖，此外更有意义的可能是在于它能产生还原辅酶 II。在许多合成代谢中（如脂肪酸、固醇等的合成）都需要还原辅酶 II，而不是还原辅酶 I。这也说明为什么在乳腺、脂肪组织、肾上腺皮质中大部分糖的分解是通过 HMP 支路的。

HMP 支路可能和植物的关系更为密切，因为参与光合作用的某些酶（如转羟乙醛基酶、转二羟丙酮基酶等）以及一些中间产物（C_4、C_5、C_7）和 HMP 支路中的完全一样。

某一生物（或生物的某一组织）究竟通过酵解途径（加上三羧酸循环）还是通过磷酸戊糖途径进行分解，也可以用同位素标记法来区别。分别用 ^{14}C-1-葡萄糖和 ^{14}C-6-葡萄糖（^{14}C-1

或 ^{14}C-6-葡萄糖表示葡萄糖分子上第1位C或第6位C用同位素 C^{14} 标记)培养生物，收集放出的 CO_2，测定标记的 CO_2 的量。如果 $^{14}C\text{-}6/^{14}C\text{-}1=1$，则说明糖的分解是通过酵解途径；如果 $^{14}C\text{-}6/^{14}C\text{-}1$ 小于1，则说明主要通过磷酸戊糖途径或两者同时存在。

三、氢的去路——生物氧化和高能键的形成

三羧酸循环必须在有氧的条件下才能进行，但在前面的叙述中都没有提到氧的参加，我们只看到在整个过程中包含有不少脱氢反应。脱下的氢被 NAD^+ 或 $NADP^+$ 所接受，也有少数直接被酶的辅基所接受，例如琥珀酸脱氢酶上的辅基黄素(FAD)。细胞内辅酶或辅基的数量是很少的，当它们一旦被氢饱和之后，就不能再接受氢了，必须将氢交给其他受体之后，辅酶或辅基才能执行新的任务。事实上，在依靠氧气生活的生物体内，氧便是整个环节中脱下的氢的最后受体，也即是饱和了氢的辅酶或辅基经过一系列的氢传递体，进行逐步的氧化(即传递氢和电子的过程)，最后氢被氧所接受，形成 H_2O。这种在生物体内进行的氧化作用，称为生物氧化。生物氧化是指细胞内一切代谢物进行的氧化作用，并产生大量能量的过程。生物氧化和非生物氧化是显然不同的：(1)生物氧化是逐步进行的，能量分段释放出来，而非生物氧化则往往是剧烈的，能量一次放出；(2)生物氧化中释放的能量大部分以化学能形式储藏在ATP分子内，ATP为生物可直接利用的一种化学能，而非生物氧化的能量都是以热或光的形式放出。

在真核生物细胞内，生物氧化都在线粒体内进行，在不含线粒体的原核生物如细菌细胞内，生物氧化则在细胞膜上进行。

1. 线粒体

除细菌以外，线粒体是普遍存在于动植物细胞内的一种细胞器。它是生物体内代谢物进行氧化磷酸化作用的场所。线粒体内含有三羧酸循环、呼吸链以及脂肪酸氧化等酶系。

线粒体一般呈线状或粒状，在大多数细胞中线粒体是线状的。平均长度约为3微米，阔度约为0.5～1微米。每一细胞中的线粒体数目从数百到数千不等。线粒体的主要成分是蛋白质和脂质类。

线粒体是由双层膜所构成。内膜向内伸展形成许多称为线粒体嵴的褶迭，嵴的内表面散布着许多突出的结构，称为颗粒，由内膜所包围的空间充满着相当致密的物质，称为线粒体基质。有关氧化的酶分布在外膜、内膜和基质中。

2. 呼吸链

图 10-5 呼吸链示意图

呼吸链也称电子传递链，由存在于线粒体上的一系列能接受氢或电子的中间递体所组成。组成呼吸链的成员有脱氢酶、辅酶 I、黄素蛋白、辅酶 Q 以及一类细胞色素。代谢物上脱下的氢通过呼吸链，逐步传递，最后为分子氧所接受。

代谢物(M2H)首先通过脱氢酶的作用，将氢转移到 NAD^+ 上，形成 $NADH + H^+$；还原辅酶 I 又将氢转移到黄素蛋白上，形成还原型黄素蛋白(F2H)。黄素蛋白实际上起着还原辅酶 I 脱氢酶的作用，通过这个酶的作用，将 $NADH+H^+$ 上的氢转移给辅酶 Q。辅酶 Q 是一类苯醌衍生物，以还原的(酚结构)和氧化的(醌结构)两种状态存在。

O; CH_3O—; —CH_3; CH_3; CH_3O—; —$(CH_2CH{=}C{-}CH_2)_nH$; O

(氧化型)

$\underset{-2H}{\overset{+2H}{\rightleftharpoons}}$

OH; CH_3O—; —CH_3; CH_3; CH_3O—; —$(CH_2CH{=}C{-}CH_2)_nH$; OH

(还原型)

$n=6\sim10$

还原辅酶 Q(CoQ·2H)被细胞色素 b(Fe^{+++})所氧化，释放出 H^+：

$$CoQ\cdot 2H + 2Fe^{+++} \longrightarrow CoQ + 2H^+ + 2Fe^{++} \quad (1)$$

在呼吸链末端的氧被细胞色素氧化酶还原，形成 OH^-：

$$\frac{1}{2}O_2 + H_2O + 2Fe^{++} \longrightarrow 2OH^- + 2Fe^{+++} \quad (2)$$

OH^- 与上面形成的 H^+ 结合成代谢水。式(1)和式(2)的净结果为

$$CoQ\cdot 2H + \frac{1}{2}O_2 \longrightarrow CoQ + H_2O$$

H; N; α; β; M; CH_2-CH_2-S-CH_2-CH-C; O; 蛋; 白; 质; HC; N; CH; N(咪唑); M; H; N; M; N—Fe—N; α; β; P; CH_2-CH_2-S-CH_2-CH-C; O; HC; N; CH; N(咪唑); P; M

P=CH_2CH_2COOH

M=CH_3

图 10-6　细胞色素 c

细胞色素不止一种，根据它们的吸收光带的不同，可以分为 a、b、c 三大类。已经发现的细胞色素不下数十种，它们都是含有类似于血红素的辅基的结合蛋白。由于细胞色素 c 易被水抽提、纯化，因此对于它的结构研究得比较清楚。细胞色素 c 的蛋白质由 104 个氨基酸组成，它的顺序也已经弄清楚。蛋白与辅基的结合如图 10-6 所示。在血红蛋白中，辅基血红素的 2, 4 位上均为乙烯基(—CH═CH_2)。细胞色素 c 中的辅基血红素的 2, 4 位上乙烯

基与蛋白质分子内的半胱氨酸相结合。血红蛋白在携带氧气的时候，血红素分子上铁的价数不变，仍旧处在二价铁的状态。但是细胞色素 c 传递电子时，铁离子的价数要起变化。

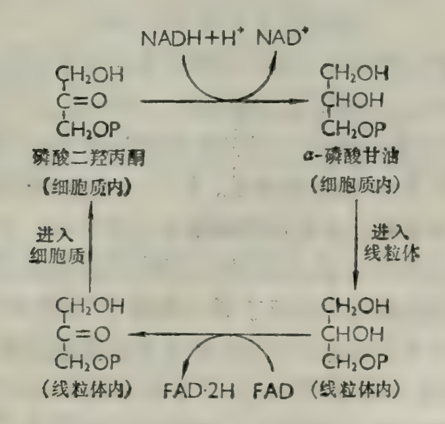
呼吸链上各个组分的氧化能力(或还原能力)的强弱都各不相同。自左到右各个组分的氧化能力依次增强，NADH 的氧化能力最弱，O_2 的氧化能力最强。也可以说 NADH 的还原能力最强，O_2 的还原能力最弱。呼吸链上的各个组分严格地按氧化还原能力的大小顺序进行反应，氧化能力强的组分并不越级去氧化离它较远的组分，例如 O_2 并不直接氧化 NADH 或 CoQ2H，而只氧化细胞色素 a_3。

各种氧化还原体系的氧化能力的强弱可以定量地用氧化还原电势(E_0' 伏特)来表示(表10-1)。

表 10-1　细胞内几种体系的氧化还原电势

	E_0' 伏特
H_2/O_2	+0.82
细胞色素 a_3 Fe^{++}/Fe^{+++}	+0.5
细胞色素 a Fe^{++}/Fe^{+++}	+0.29
细胞色素 c Fe^{++}/Fe^{+++}	+0.22
细胞色素 b Fe^{++}/Fe^{+++}	+0.07
琥珀酸/延胡索酸	+0.03
NAD·2H/NAD	−0.32

线粒体膜对于 NAD 或 NADH 是不能通透的，那么在细胞质内形成的 NADH 怎样进行氧化的呢?细胞质内的 NADH 是通过穿梭运送的方式而到达呼吸链进行氧化的。细胞质中含有 α-磷酸甘油脱氢酶可以将磷酸二羟丙酮还原为 α-磷酸甘油，后者可以扩散到线粒体内，线粒体内则有另一种 α-甘油脱氢酶，可以催化进入的 α-磷酸甘油脱氢，形成 FAD·2H。于是细胞质内的 NADH 便间接地形成了线粒体内的 FAD·2H，后者通过呼吸链产生ATP。



不论是在线粒体内的还是在细胞质内的 NADPH 都不能直接参与呼吸链，而是通过转氢作用将氢先转移到 NAD 上，然后再通过呼吸链进行氧化的。

存在于线粒体内的 NADPH 通过转氢酶的作用，将氢转移到 NAD 上：

$$NADPH + NAD^+ \longrightarrow NADP^+ + NADH$$

至于存在于细胞质内的 NADPH 可能是通过两个偶联的反应进行穿梭运送的方式，将氢转到线粒体内的 NAD 上。例如由两种异柠檬酸脱氢酶催化的反应：

$$\underset{(\text{细胞质内})}{\alpha\text{-酮戊二酸} + CO_2 + NADPH + H^+} \rightleftharpoons \underset{(\text{细胞质内})}{\text{异柠檬酸} + NADP}$$

$$\underset{(\text{线粒体内})}{\text{异柠檬酸} + NAD^+} \rightleftharpoons \underset{(\text{线粒体内})}{\alpha\text{-酮戊二酸} + CO_2 + NADH + H^+}$$

两式相加的净结果为：

$$\underset{(\text{细胞质内})}{NADPH} + \underset{(\text{线粒体内})}{NAD^+} \rightleftharpoons \underset{(\text{细胞质内})}{NADP^+} + \underset{(\text{线粒体内})}{NADH}$$

柠檬酸能自由通过线粒体膜，将氢在 NAD 和 NADP 之间传递。

一般通过氧化提供能量的酶大都是利用 NAD 的，而催化还原合成反应的酶则往往是利用 NADP 的。因此细胞质内的 NADPH 很可能主要用于需能的还原合成反应中，例如非线粒体系统中脂肪酸的合成。

通过细胞色素系统进行氧化是一切动物、植物、微生物的主要氧化途径。植物体内有抗坏血酸脱氢酶，可以催化抗坏血酸和脱氢抗坏血酸之间的可逆反应。这反应和谷胱甘肽(GSSG)的氧化还原反应偶联起来，可能与植物呼吸作用有关，电子通过下述的链而传递：

$$MH_2 \rightarrow NADP^+ \rightarrow GSSG \rightarrow \text{脱氢抗坏血酸} \rightarrow O_2$$

此外还有一类更为简单的氧化作用，例如许多含有黄素为辅基的氨基酸氧化酶，它们能使底物和 O_2 直接作用生成 H_2O_2。在这样简单的氧化作用中，释放出来的能量往往浪费了，没有被捕获成为生物可以利用的高能化合物。

$$\text{氨基酸} + O_2 \longrightarrow \text{酮酸} + H_2O_2$$

3. 氧化磷酸化作用

通过呼吸链上一连串的氧化还原反应，一方面还原辅酶 I 再生为氧化辅酶 I，另一方面释放出的能量被 ADP 接受，形成 3 分子 ATP：

$$ADP + Pi + \text{能} \longrightarrow ATP$$

呼吸链上氧化作用释放的能量和 ADP 的磷酸化作用偶联起来形成 ATP，这个作用称为氧化磷酸化作用，是生物产生 ATP 的主要途径。呼吸链上产生 ATP 的位置，大约在辅酶 I 和黄素蛋白之间，细胞色素 b 和 c 之间以及细胞色素 c 和 O_2 之间。

氧化磷酸化的大小可用 P/O 比值来表示。P/O 比值是指应用某一物质作为呼吸底物，消耗 1 克原子氧时，有多少克原子的无机磷被酯化为有机磷，也即是消耗 1 克原子氧时生成的 ATP 克分子数 ($Pi + ADP + \text{能} \rightarrow ATP$)。例如在三羧酸循环中，由 NAD^+ 参与的氧化作用的 P/O 比值为 3；琥珀酸氧化为反丁烯二酸的 P/O 比值为 2；α-酮戊二酸氧化为琥珀酸的 P/O 比值为 4，其中 3 个克分子 ATP 是通过呼吸链的氧化磷酸化作用产生的，还有 1 个克分子 ATP 是在底物水平上产生的。用解偶联剂 2，4-二硝基酚一起反应时只能产生 1 个 ATP。2，4-二硝基酚能抑制呼吸链上的磷酸化作用(即不形成 ATP)，但不影响氧化作用。所以说 4 个克分子 ATP 中有 1 个克分子 ATP 是在底物水平上产生的。

4. 糖氧化过程中产生 ATP 的总数

糖(和脂肪)彻底氧化时可以产生大量的 ATP，那么 1 克分子葡萄糖究竟可以产生多少克分子 ATP？多少能量化作热能而丧失了？生物利用能量的效率究竟高不高？

在酵解过程中，3-磷酸甘油醛经脱氢酶作用，形成含有高能键的1,3-二磷酸甘油酸，通过下一步反应，释放出一个ATP。这里ATP的形成并不需要氧，也没有电子传递系统的酶参加。因此这种产生ATP的方式称为在底物水平上产生，以区别于通过电子传递系统而产生ATP的氧化磷酸化作用。在酵解过程中，通过反应10产生1个ATP。在三羧酸循环中反应7所产生的一个ATP也属于这个方式。

三羧酸循环中形成的还原辅酶Ⅰ和还原型琥珀酸脱氢酶，都可以通过电子传递系统产生ATP。在有氧条件下，酵解过程中反应6产生的还原辅酶Ⅰ也同样能通过呼吸链产生ATP。

表10-2中ATP的总数是20，这是在1个克分子三碳糖的基础上出发的。因此1克分子葡萄糖完全氧化时，应该产生40个克分子ATP。不过在分解开始的时候，曾经用掉过2个克分子ATP，所以实际上每1个克分子葡萄糖净产38个克分子ATP。已知1克分子葡萄糖完全氧化时产生的自由能（$-\Delta F$）为686,000卡。如果每1克分子高能键所含的自由能以12,000卡计算，那么1克分子葡萄糖可以产生$\frac{686,000}{12,000}=57$个克分子$\sim$P，而在生物体内可获得38个克分子ATP，于是可以计算出活细胞的能量利用效率约为$\frac{38}{57}=66\%$，其余的34%都散失为热。虽然有这么多能不能利用，但这个效率比起内燃机来还是高得多（内燃机的效率约为43%）。

表10-2　葡萄糖有氧分解过程中可以产生ATP的环节

反应式	ATP数
3-磷酸甘油醛 + ADP + NAD^+ $\longrightarrow$ 3-磷酸甘油酸 + NADH + H^+ + ATP	1
NADH + H^+ + $\frac{1}{2}O_2$ $\longrightarrow$ NAD^+ + H_2O	3
磷酸烯醇丙酮酸 + ADP $\longrightarrow$ 丙酮酸 + ATP	1
丙酮酸 + NAD^+ + CoASH $\longrightarrow$ 乙酰辅酶A + NADH + H^+ + CO_2	0
NADH + H^+ + $\frac{1}{2}O_2$ $\longrightarrow$ NAD^+ + H_2O	3
异柠檬酸 + NAD^+ $\longrightarrow$ NADH + H^+ + 草酰琥珀酸	0
NADH + H^+ + $\frac{1}{2}O_2$ $\longrightarrow$ NAD^+ + H_2O	3
α-酮戊二酸 + NAD^+ + CoASH $\longrightarrow$ 琥珀酰辅酶A + NADH + H^+	0
NADH + H^+ + $\frac{1}{2}O_2$ $\longrightarrow$ NAD^+ + H_2O	3
琥珀酰辅酶A + GDP + Pi $\longrightarrow$ GTP + 琥珀酸 + CoASH	1
琥珀酸 + $\frac{1}{2}O_2$ $\longrightarrow$ 延胡索酸 + H_2O	2
苹果酸 + NAD^+ $\longrightarrow$ 草酰乙酸 + NADH + H^+	0
NADH + H^+ + $\frac{1}{2}O_2$ $\longrightarrow$ NAD^+ + H_2O	3
总计	20 ATP

糖的分解代谢过程中，除形成 ATP 外，也产生一定的热能，这种热能只能用在维持体温，并不能利用它来做其他的功，例如生物合成反应，肌肉收缩，物质通过膜的主动传送过程，这些过程中所需的能量都要以化学能的形式来供给，如 ATP、GTP 等。

第三节　柠檬酸发酵、谷氨酸发酵与糖代谢的关系

微生物进行三羧酸循环已经有了充分的证据。生产柠檬酸的黑曲霉细胞内存在三羧酸循环和乙醛酸循环。一般的生物细胞内三羧酸循环上的柠檬酸的量是极少的，为什么黑曲霉能产生大量的柠檬酸呢？有人认为 C_1 与 C_3 能缩合成 C_4 是一个重要的因素。有了足够的 C_4 物，就可以与 C_2 缩合成 C_6 的柠檬酸。

$$\underset{\text{丙酮酸}}{CO_2 + CH_3COCOOH} \longrightarrow \underset{\text{草酰乙酸}}{\begin{array}{l} \quad CH_2COOH \\ \quad\ | \\ O{=}CCOOH \end{array}}$$

$$\underset{\text{乙酰辅酶 A}}{CH_3COSCoA} + \underset{\text{草酰乙酸}}{\begin{array}{l} \quad CH_2COOH \\ \quad\ | \\ C{=}CCOOH \end{array}} \longrightarrow \underset{\text{柠檬酸}}{\begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ HO{-}C{-}COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \end{array}} + CoASH$$

但是这仍不能解释为什么柠檬酸的下一步反应进行得很慢而使柠檬酸累积起来。有人发现高产柠檬酸的黑曲霉菌种的异柠檬酸脱氢酶活力很低，异柠檬酸通过乙醛酸循环产生 C_4，有了足够的 C_4 就有利于柠檬酸合成。

过去在柠檬酸发酵中往往用亚铁氰化钾预先处理培养基以提高柠檬酸的产率。亚铁氰化钾对菌的生长有抑制作用，使养料不致耗损在菌丝体的徒长上，亚铁氰化钾对异柠檬酸脱氢酶也有抑制作用，更有利于柠檬酸的累积。现在我国柠檬酸发酵工业上选得了一个新菌种，可以不必加入亚铁氰化钾，但柠檬酸仍能达到相当高的产率。柠檬酸发酵的确切机制究竟是怎样的，还有待于进一步阐明。目前认为柠檬酸的产生是通过下列过程的设想似乎还是合理的。

$$\begin{array}{r} \text{葡萄糖} \longrightarrow 2\ \text{丙酮酸} \\ \text{丙酮酸} \longrightarrow \text{乙酸} + CO_2 \\ \text{丙酮酸} + CO_2 \longrightarrow \text{草酰乙酸} \\ \text{草酰乙酸} + \text{乙酸} \longrightarrow \text{柠檬酸} \\ \hline \text{葡萄糖} \longrightarrow \text{柠檬酸} \end{array}$$

谷氨酸发酵也和三羧酸循环直接有关，因为谷氨酸的碳架 α-酮戊二酸是三羧酸循环中的一个中间产物。α-酮戊二酸通过 L-谷氨酸脱氢酶，在铵离子、还原辅酶 II 的作用下，生成谷氨酸。

$$
NH_4^+ + \begin{array}{c} COOH \\ | \\ C{=}O \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \\ \alpha\text{-酮戊二酸} \end{array} + NADPH \rightleftharpoons \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{谷氨酸} \end{array} + NADP^+ + H_2O
$$

铵离子由发酵的培养基中提供，NADPH＋H^+ 则由前一步反应，即异柠檬酸的脱氢作用中提供，也即是谷氨酸是在 L-谷氨酸脱氢酶和异柠檬酸脱氢酶的偶联下生成的。

$$
NADP^+ + \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CHCOOH \\ | \\ HOCH \\ | \\ COOH \\ \text{异柠檬酸} \end{array} \rightleftharpoons NADPH + H^+ + \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CHCOOH \\ | \\ O{=}C \\ | \\ COOH \\ \text{草酰琥珀酸} \end{array}
$$

谷氨酸产生菌的 α-酮戊二酸脱氢酶活力很低，因此 α-酮戊二酸转化为琥珀酰辅酶 A 的速度也很低。这样就使它不能顺利通过三羧酸循环的全过程，而进行乙醛酸循环。也有人认为谷氨酸产生菌中也有 HMP 支路，但不占主要地位。

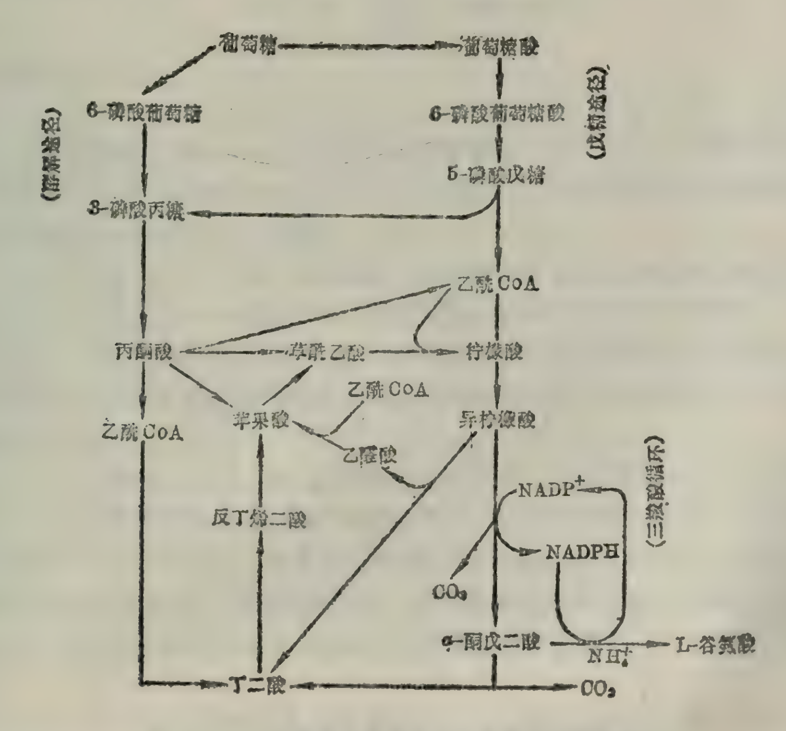


图 10-7　产谷氨酸小球菌形成谷氨酸的可能机制

此外，谷氨酸的产率还受到细菌细胞壁的限制，细胞壁使谷氨酸不能渗透出来，保持细胞内有一定的浓度。细胞内的谷氨酸既然有了一定的浓度，就不再源源不断地合成谷氨酸

了，这也是一种自我调节的机制，但对生产是不利的。目前工业上采用限量生物素的办法提高谷氨酸产率。生物素是谷氨酸产生菌必需的一种维生素，在发酵培养基中不给足量的生物素，而给以限量的生物素时，可以促进谷氨酸的分泌。产量可达60克/升(培养基)，约为所消耗的葡萄糖的50%。生物素的作用显然是控制细胞壁的透性，但并不是直接的作用，而是通过其他物质，间接地影响细胞壁的透性。在采用糖蜜作碳源时，谷氨酸的产量极低，因为糖蜜中的生物素含量很高，在这种情况下可加入青霉素阻碍细胞壁物质的合成，从而改变细胞壁的透性，使谷氨酸从细胞中渗透出来。

第十一章　糖类的合成代谢

上一章我们讨论了糖类分解代谢的基本过程。显然，要分解糖类，必须先有糖类存在。但是，无机界自行合成的有机物是很少的，远远不能满足生物界的需要。因此，生物界要存在并发展，必须自己的部分成员能够从无机物制造大量的有机物。在生物进化过程中，这个“任务”由植物完成了。由于糖类是有机代谢的起点物质，这一章我们就来介绍糖类的合成代谢，特别是糖类的初始生物合成——植物的光合作用。

第一节　光合作用的一般概念

能够进行光合作用的植物，广泛地分布在陆地和海洋里，其中最重要的是绿色植物。通常就拿绿色植物的光合作用来给光合作用下定义：绿色植物吸收光能，同化二氧化碳和水，制造糖类，同时释放氧气，这个过程叫做光合作用。其基本公式是：

$$CO_2 + H_2O \xrightarrow[\text{叶绿体}]{\text{光}} (CH_2O) + O_2$$

几点说明如下：

(1) 光合作用的“部位”：植物的绿色部分(绿叶、绿茎、绿穗、绿果等)　主要是绿叶。绿叶中含有大量绿色细胞，其中具有许多绿色的细胞器——叶绿体，它含有绿色色素——叶绿素。叶绿素分子不大吸收绿光(图 11-4)，故呈现绿色。光合作用的全过程都存在于叶绿体中，所以光合作用在空间上有局限性。

(2) 光合作用的“原料”：水和二氧化碳　水是根系从土壤中吸收的，通过导管输送到叶中。二氧化碳由空气通过叶子表皮上的“气孔”扩散到叶细胞，进入叶绿体。

(3) 光合作用的“产物”：糖类和氧气　在其他物质参与下，糖类在体内经过一系列的代谢转化，生成各种有机物，构成植物的躯体，维持植物的生命，并形成农产品。氧气则主要通过气孔排到大气里去。

(4) 光合作用的“能源”：光　从热力学的观点来看，原料($CO_2 + H_2O$)是低能状态，产物[$(CH_2O) + O_2$]是高能状态，要把原料制成产品，需要外界供给能量。这个能量来自太阳(或其他光源)所发射的可见光。可见光(波长约 400～800 毫微米)被光合色素(叶绿素、类胡萝卜素等)所吸收并传递。通过光合作用，被吸收的光能转变成化学能，贮藏于光合产物之中。光合作用只有当足够强的可见光照射的时候，才能够进行。因此，光合作用在时间上有局限性。

从量上看，光合作用是生物界中规模最大的一个生物化学过程。据一种估计，地球上光合作用每年同化二氧化碳约 7×10^{11} 吨，折合碳素约 2×10^{11} 吨；消耗水约 3×10^{11} 吨；合成有机物(糖)约 5×10^{11} 吨；产生氧气约 5×10^{11} 吨；同化光能约 2×10^{18} 千卡，相当于全世界人类当前一年耗用能量的几十倍。大气和海洋中全部的“CO_2”，平均每几百年更新一次；氧气

平均每几千年更新一次：江河湖海的全部水量平均每几百万年通过光合作用一次。在漫长的地质年代中，CO_2、H_2O、O_2 不知周转几多次了。

从质上看，光合作用是生物界中一个基本的生物化学过程，它是生物界物质转化和能量转化的基础，它提供了生物界生存和发展所必需的碳源、氢源、氧源、能源。百花斗艳、千鸟争鸣、万菌竞发的欣欣向荣的生物界，就建筑在光合作用这块唯一的基石之上。

第二节　光合作用的两类反应

上面已述，光合作用只有在照光时才能进行。但是，光合作用的全过程中，并非每个步骤都需要照光。因此，把光合全过程划分为两类反应：(1)光反应，必需照光；(2)暗反应，不需光照。光暗两类反应顺序交替进行，这一点首先是根据光合动力学分析得知的。

一、持续光动力学分析

光合作用的速率(单位时间、单位植物材料的放 O_2 量或 CO_2 吸收量)很易受光强度、CO_2 浓度、温度三个外界条件的影响。在持续光照射下，研究三个条件对光合速率的影响，可以推论出光合作用包括光暗两类反应。

温度对光合速率的影响是随光强度而改变的：(1) 在弱光下，温度(在一定范围内)不影响光合速率，温度系数 $Q_{10}=1$，表现出光化学反应的特点；(2) 温度对光合速率的影响只在强光下才现出来，而且 $Q_{10}\geq 2$，表现出酶化学反应的特点。可以这样解释：光合作用由光化学反应(光反应)和酶化学反应(暗反应)所组成；因条件的不同，两类反应都可能分别地包含光合速率的限制步骤。在弱光下，光强度是限制因子，光反应速率低于暗反应速率，光合速率受光反应速率所限制，所以改变温度并不能改变光合速率。在强光下，光反应速率高于暗反应速率，光合速率受暗反应速率所限制，如果这时温度是暗反应速率的限制因子，那么改变温度才能改变暗反应速率，从而影响光合速率。CO_2 浓度对于不同光强度下光合速率的影响，也可以作类似的分析。

由上述可见，从外部的限制因子，进入内部的限制步骤，推论出光合作用全过程中包含着顺序的光暗两类反应。这是性质不同的两类反应。光反应受光影响，不受 CO_2 和温度的直接影响，它是光能吸收、传递和转化的物理-化学反应。暗反应受温度和 CO_2 浓度的影响，不受光的直接影响，它是光反应产物进一步转化的酶和非酶反应，包括 CO_2 的全部同化步骤。严格地说，光反应只包括光合色素对光的吸收和传递，其后继反应都是不需光的。

在农业生产上，光、温、CO_2、水、肥等条件的缺乏或不适宜，都要降低作物的光合速率。虽然目前对前三者还不能大规模地人工控制，但可以通过水、肥、密以及其他方面的'促'或'控'，看天、看地、看苗，因势利导，夺取高产。

二、闪光动力学分析

如果光合作用的确包括光暗两类反应，那么用光暗交替的间歇光尤其是用闪光照射，当更能表现出光暗两类反应的特点。图 11-1 是一个典型的闪光实验结果。闪光的强度高而

时间短(10^{-5}~10^{-6} 秒)，两次闪光之间的暗期则给以变化，并且在两种温度下进行，以便含量观察暗反应的特点。两条平行直线(1)和(2)比较说明：供给的光能不同，光合产量就不同，即是说，光合产量是由光反应同化的能量决定的；由于温度高(25℃)，暗反应速率高，在很短的暗期中($<10^{-2}$ 秒)，就把光反应的产物转化成终产物了。直线(2)和曲线(3)比较说明：只要供给的光能一样，终产量的水平就一样，温度并不决定终产量的水平。温度影响暗反应速率，在低温(1℃)下，需要较长的时间(0.4 秒)才能够把光反应产物全部转化成终产物，而在高温下(25℃)，在不足 10^{-2} 秒的暗期内就把全部光反应的产物转化完毕。这个实验指出，光反应的时间很短，暗反应的时间要长得多。在 1℃ 下，10^{-5} 秒的光反应所产生的中间产物，需要暗反应花 0.4 秒的时间才能转化掉，两者速率相差 4×10^4 倍；在 25℃ 下，两者也相差 10^3 倍。可见，在入射光充足的情况下，光合作用之所以会发生“光饱和”现象，是因为受到了暗反应速率限制的缘故。

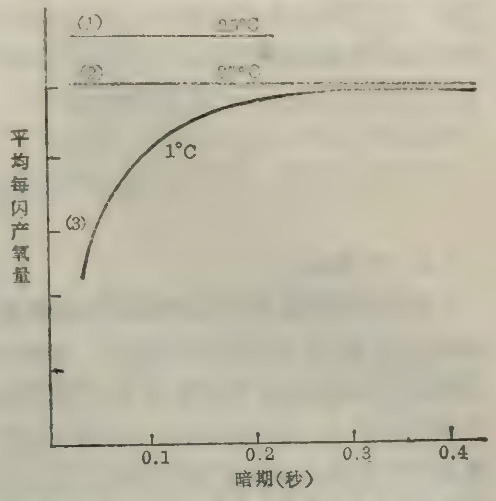


图 11-1　每闪产氧量与暗期和温度的关系
供给光能：(1)＞(2)，(2)＝(3)

三、光合单位概念

在上面的实验中，如果把被测植物材料的叶绿素分子数与每闪最大产氧量的分子数比较一下，可以得到一个相当大的比数：大约 2500 个叶绿素分子释放一个氧分子。因此推想，叶绿素分子并不是单个地与暗反应相联系，而是形成一定大小的集体起作用的。从而导致“光合单位”的概念：2500 个叶绿素分子构成一个集团，与一个反应中心相联系，吸收一定数目的光子，导致释放一个 O_2 分子。鉴于光合作用的“量子需量” $\phi=8$(释放一个 O_2 分子需要至少吸收 8 个“红”光子)，则“光合单位”应是每 300 个叶绿素分子构成一个物理集体，与一个化学反应中心相联系，吸收一个光子，引起一个化学反应，传递一个电子。这个物理单位中的任何一个叶绿素分子吸收了一个光子，就将其能量在该单位中传递，达到反应中心，导致化学反应——一个电子的移动。反应中心可能就是把光能转变成电能的地点。这样的物理-化学单位，目前还仍是一种推论，无论在结构上或功能上都尚未搞清楚。这样的单位如果的确存在的话，它们之间的时空联系方式究竟如何，也尚待解决。当前一般的看法似乎是：两个单位(即两个光反应系统)在空间上联合，在时间上相继发生两个光反应；各经过四次光激发，共同传递四个电子，导致两个水分子分解，释放一个氧分子。在无机界和生物界的其他场合，尚未碰到过类似的复杂情况(图 11-5)。

第三节　光合作用的光能转化

同其他的生物化学过程相比，光合作用的特点就是把光能转变成化学能——生物中间

代谢通用的还原剂(NADPH)和高能化合物(ATP)。实验已经证明,有了这两种物质(合称"同化力"),在适当的酶系存在下,就可以不需照光而在暗中把 CO_2 还原成糖。所以光合作用的特点就是把光能转化为化学能(NADPH 和 ATP)。这个转化,在植物体内是与叶绿体的结构和光合色素的性能分不开的。

一、叶绿体与光合色素

1. 叶绿体

叶绿体是真核光合生物特有的细胞器,是光合作用在细胞内发生的场所。藻类的叶绿体有杯状、星状、带状等多种形式。高等植物的叶绿体呈扁的椭球状,厚1~2微米,长2~4微米,一个细胞通常含有几十个。叶绿体外围着双层的膜,叫做包膜;内分间质和基粒,基粒分散于间质中,相当有规则。基粒是由若干个平行的碟片(叫做类囊体)堆积成的层状区域,是光合色素集中的地方;间质的主要成分是蛋白质,其中也有色素片层,联系着相邻的基粒。这种结构叫做基粒叶绿体,为高等植物叶肉细胞所特有(图 11-2)。



图 11-2 菠菜叶绿体($KMnO_4$ 固定薄切片) ×32500

含有色素的片层很可能由磷脂和蛋白质巨分子亚单位构成,它控制着色素的空间排列和定向。这种结构方式扩大了叶绿体的内膜表面积,造成了膜两侧的异质性。这有利于光能的吸收和传递,降低能量的浪费,阻止光反应不稳定产物的逆反应。直接与光反应相联系的电子传递系统可能也存在于色素片层中,这有利于把光能转变成电子流,形成化学

能。光合作用的酶系统也分布于间质中，存在于基粒中色素片层之间或基粒之间的蛋白质部分，它们催化 CO_2 的固定与还原及光合产物的形成。层状结构体系把光合作用全部复杂的酶系统和非酶系统有组织地安排好，使光合作用各个分反应得以在空间上和时间上彼此分开而又相互联系，以便诸反应井然有序地进行，达到很高的效率。

总之，片层结构系统最重要的特征有两方面：(1) 异质性，(2) 有序化。唯其异质，故能在空间上容纳不同性质的反应系统；唯其有序，故能在时间上协调各反应，使它们顺序进行，有条不紊。

2. 光合色素

能够吸收可见光以敏化光合作用的色素，共有三大类：(1)叶绿素，(2)类胡萝卜素，(3)藻胆素。植物的光合色素包含着这三类色素。

叶绿素有四种：a, b, c, d。绿色植物只含有 a, b 两种，其结构式如图 11-3。四个吡咯

图 11-3　叶绿素 a 的结构

（将 $-CH_3$ 换成 $-CHO$ 即叶绿素 b）

环和一个环戊酮构成一个平面，中心联着一个镁原子。这个平面具有“亲水性”，能够与蛋白质相结合。该平面上联系着一条短的甲酯和一条长的植醇 ($C_{20}H_{39}OH$) 酯，使叶绿素具有“亲脂性”，能够与脂类结合。在叶绿体中，叶绿素可能处于蛋白质和脂类的交界面上。

叶绿素分子中有一个大的共轭双键系统，加上处于中心的镁原子的影响，使它能够吸收可见光，传递激发能，甚至发生电荷分离。纯叶绿素在有机溶剂中的吸收光谱有两个峰，一个在红光区，一个在蓝紫光区，a 和 b 稍有不同(图 11-4)。在叶绿体中，由于叶绿素的聚集或与蛋白质等的结合状态不同，可使吸收峰的位置发生变化，甚至出现不同“品种”的叶绿素。

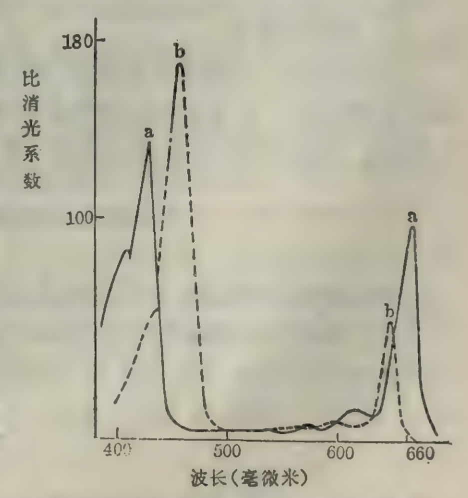


图 11-4　乙醚溶液中叶绿素 a 和 b 的吸收光谱

类胡萝卜素包括胡萝卜素(碳氢化合物)和叶黄素(碳氢氧化合物)，各有多种异构体。总的看来，呈现黄橙色，吸收蓝紫光。藻胆素包含藻红素和藻蓝素两类，只存于红藻和蓝藻中。

众多的光合色素，又可以分成两组：(1) 主要色素——叶绿素 a，存在于一切光合植物，是光合作用中起主要作用的色素；(2) 辅助色素——叶绿素 b、c、d，类胡萝卜素，藻胆素。实验证明，各种辅助色素所吸收的光，都能够传递给叶绿素 a。现在的一般看法是，只有某些特殊的叶绿素 a（存于反应中心）的激发，才能直接引起化学反应，其他的叶绿素 a 和辅助色素所吸收的光，要先传递给反应中心的叶绿素 a，才能够发生化学反应和生物学作用。

二、叶绿素的光化学

将叶绿素从植物体提取出来，溶于适当的有机溶剂中，加上适当的电子供体（还原剂）或电子受体（氧化剂），照光时叶绿素能够发生光还原或光氧化。

1. 叶绿素的光氧化

叶绿素溶于甲醇中，加入 $FeCl_3$，照光时脱色，表明叶绿素被氧化（失电子），形成带正电的自由基，在暗下又逆反回去：

$$\text{Chl} + Fe^{+++} \underset{\text{暗}}{\overset{\text{光}}{\rightleftharpoons}} \text{Chl}^{+} + Fe^{++}$$

2. 叶绿素的光还原

叶绿素溶于吡啶中，加上抗坏血酸（维生素 C），排除 O_2，照光时叶绿素形成粉红色物质，这表明叶绿素被还原（得电子），成为带负电的自由基，在暗下又逆反回去：

$$\text{Chl} + \text{维生素 C} \underset{\text{暗}}{\overset{\text{光}}{\rightleftharpoons}} \text{Chl}^{-} + \text{维生素 C}^{+}$$

这两种实验说明，叶绿素吸收光后能够与其他物质发生电子交换，将光能转变为电子传递。处于光合单位反应中心的叶绿素 a，它的原初光化学反应当是发生电荷的分离和传递。

三、叶绿体的光反应

1. 水的光氧化

零上低温下，在等渗的和适当 pH 的溶液中，把绿叶磨碎，打破细胞，用分级离心法把叶绿体分离出来。在离体叶绿体的悬浮液中，加入高铁盐（例如铁氰化钾），给以光照，就有氧气释放。高铁还原量与氧释放量的计量关系为：

$$4Fe^{+++} + 2H_2O \xrightarrow[\text{叶绿体}]{\text{光}} 4Fe^{++} + 4H^{+} + O_2$$

与光合作用相比较，显然此类反应是以 Fe^{+++} 代替了 CO_2。除高铁盐外，苯醌、某些具有氧化还原性能的靛酚染料乃至分子 O_2，都可以代替高铁盐而起类似的反应。这类反应叫做希尔反应，代替 CO_2 起氧化剂作用的高铁、苯醌、染料等物质，叫做希尔氧化剂。如果用 A^{+} 代表希尔氧化剂，则希尔反应可以表示如下：

$$4A^{+} + 2H_2O \longrightarrow 4A + 4H^{+} + O_2$$

希尔反应证明，光合作用可以拆成两半：(1) 光分解水，放 O_2；(2) CO_2 的固定和还原成糖。

2. 辅酶的光还原

高铁、苯醌、染料等希尔氧化剂，乃是外源的非生理的物质。生物体中起递氢作用的重要物质——辅酶(如 $NADP^+$)是否也能够作为希尔氧化剂呢?在改进了实验技术之后，证明是可能的。

完整的离体叶绿体，在适当的悬浮液中，照光时能够还原 $NADP^+$ 并同时放氧:

$$2NADP^+ + 2H_2O \xrightarrow[\text{叶绿体}]{\text{光}} 2NADPH + 2H^+ + O_2$$

辅酶 $NADP^+$ 的光还原，可以看成特殊的希尔反应。体内直接供电子给 $NADP^+$ 的电子递体是一种含铁含硫的蛋白质，叫做铁氧还素(fd)。在光下，fd 被还原，再将电子传给 $NADP^+$。叶绿体中有一种黄素蛋白酶(fp)，叫做 fd-NADP 氧化还原酶，催化此反应。叶绿体包膜破坏时，fd 和该酶溶于悬浮液，即失去辅酶的光还原作用。

3. 光(合)磷酸化

离体的叶绿体能够把光能转变成贮于高能磷酸键中的化学能，叫做光(合)磷酸化作用。

离体叶绿体的悬浮液，加入辅助因子——维生素 K_3、或 FMN、或 PMS，在磷酸化试剂(ADP, Pi, Mg^{++})存在下，照光时能够形成 ATP:

$$n\,ADP + n\,Pi \xrightarrow[\text{叶绿体}]{\text{光}} n\,ATP + n\,H_2O$$

这叫做循环(式)光磷酸化，即磷酸化是与光驱动的循环的电子流相偶联的，不累积还原物和氧化物。

离体叶绿体悬浮液，在能够进行希尔反应放 O_2 和 $NADP^+$ 光还原的条件下，加入磷酸化试剂，也能够产生 ATP:

$$2H_2O + 2NADP^+ + 2ADP + Pi \xrightarrow[\text{叶绿体}]{\text{光}} 2NADPH + 2H^+ + 2ATP + O_2$$

这个反应表示，希尔反应与磷酸化偶联起来，产生了三种物质: O_2, NADPH, ATP。这叫做非循环(式)光磷酸化。光驱动电子由 H_2O 出发，经过一系列传递步骤，最后到达 $NADP^+$，并不构成封闭的电子循环。在这个开链的电子途径的某(些)点上偶联着磷酸化，并有氧化物和还原物的积累(图 11-5)。

以上三类实验证明了:叶绿体能够进行 (1) 希尔反应(光解水，使氧化剂还原并放 O_2)，(2) 辅酶的光还原，(3) 光(合)磷酸化作用，从而把光能转变成三种化学能——O_2、NADPH 和 ATP。这三类反应都需要照光，也都包含着暗反应，但为方便起见，把它们叫做"光反应"。此外，实验已经证明，叶绿体还能够把光反应产生的 ATP 和 NADPH (这两种东西合称"同化力")用于还原 CO_2 的暗反应，产生糖类。所以，叶绿体是完整的光合细胞器，光合作用的全部反应历程都存在于叶绿体中。(光呼吸历程还牵涉其他细胞器，见后)

四、光合链和双光系统

上述三类反应，究竟是怎样联系起来的? 目前有一个较流行的假说(叫做"Z 方案")认为: 在光合作用的原初光反应过程中，至少包含着两个光系统，一个光系统(光系统 I)与

$NADP^+$ 的光还原有关，另一个光系统(光系统 II)与水的光氧化放氧有关。两个光系统包含的色素种类和数量也不尽相同，色素吸收的光首先向各自的反应中心传递，在那里发生电荷分离和电子传递；两个光系统各自吸收光能(光系统 II 吸收较短的波长，光系统 I 吸收较长的波长)，接力式(串联)地驱动着电子由水出发经过一系列的电子递体到达 $NADP^+$。这个电子链叫做光合链。两个光系统之间的光合链成员，已知的有质体醌(PQ)、细胞色素 b、细胞色素 f、质蓝素(PC)，还可能有其他的成分；而磷酸化作用是与光合链上的电子"下坡"运动相偶联的，但具体部位和机理尚未了解。

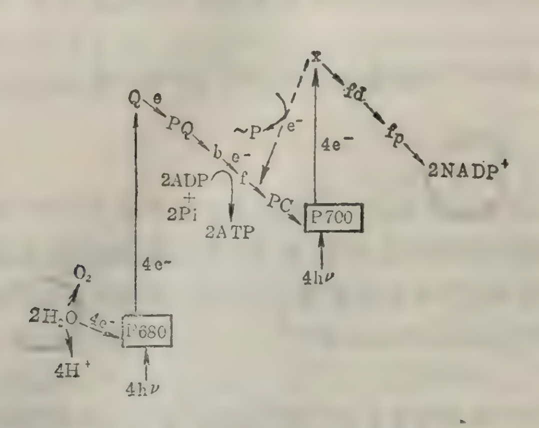


图 11-5　光合原初过程的 Z 方案

总的说来，在光合作用的光反应中，从水的光氧化到辅酶的光还原，至少要由两个光反应串联起来驱使电子沿着光合链运动(图 11-5)。光合链定位于类囊体的片层膜上。

"Z 方案"根据的一些事实和推论，简略介绍于下。

1. "红降"和双光增益效应

研究绿藻光合作用的"量子效率"时发现，在单色入射光的波长大于 680 毫微米时，量子效率急剧下降(红降现象)，但这时叶绿素 a 仍然在吸收入射光。若同时另外补充照射一束单色短波光(如 650 毫微米)，则"红降"解除，量子效率提高。长波光(远红光)和短波光同时照射时，光合速率比两者分别照射时的光合速率之和还要高。此即双光增益效应。

双光增益效应的"作用光谱"指出，吸收补充短波光的色素是这些"辅助色素"：绿藻中是叶绿素 b，蓝藻中是藻蓝素，红藻中是藻红素，硅藻中是岩藻黄素。

由双光增益效应得出结论：光合作用中有两个光反应系统，其一为叶绿素 a 所激发，另一为辅助色素所激发。后来认为，两个光系统都是被叶绿素 a(两种不同存在形式的叶绿素 a)所激发，而辅助色素的功用则是向两个光系统的反应中心叶绿素 a 传递激发能。两个光系统的色素成分和比例是不相同的，两个反应中心的成分和结构也是不相同的。

2. 双光瞬变效应(色渡效应)

长短两种波长的单色光交替照射时，在一种波长过渡到另一种波长的瞬间，光合速率发生暂时的突然升高(长波 → 短波)或降低(短波 → 长波)。两种光波迅速交替时也发生增益效应，类同两光波同时照射的情况。双光瞬变效应的作用光谱和双光增益效应的作用光谱，也是一致的。这说明两种效应有共同的内部机理。两个光波交替时，若间隔着短暂的暗期(几秒钟)，也有增益效应；暗期延长，则增益效应下降。这说明两个光反应之间有暗反应，一个光反应的产物被另一光反应用掉。两者相互创造对方存在的部分条件，互有依赖。

双光增益效应可以定量计算，双光瞬变效应难以定量计算，因为在瞬变之时可能有别的反应出现，发生干扰。

3. 光系统 I

闪光和差异光谱的研究，发现了色素 P700。P700 被远红光所氧化褪色，分离出单个电

子(为适当的电子受体所接受);它可被短波光所还原。它的电位是 +0.43 伏。它的数量约为叶绿素的 1/400。P700 被认为是光系统 I 中心的色素(特殊状态的叶绿素 a),处于反应中心的氧化端。

光系统 I 的还原力可达 −0.50 伏以下,这个内源电子受体尚未弄清楚。推测它被远红光还原,然后将电子传给 fd,再还原 $NADP^+$。

4. 光系统 II

光系统 II 比光系统 I 复杂得多,随受热或叶绿体老化而失活。它的还原端电位在零伏左右。电子受体也未弄清,有人用"Q"(荧光熄灭剂)表示之,因它能熄灭系统 II 的荧光。它的氧化端也不清楚,有人认为色素 P680(或 P690)可能是反应中心的一部分。根据单个闪光动力学实验的结果推测,在光系统 II 的氧化端似乎有个"空穴"(正电荷仓库),由于吸收四个量子而贮积四个正电荷为一个单位,氧化两个水分子,取得四个电子而复原,同时释放一个 O_2 分子。在水光氧化放氧过程中,有 Mn^{++} 和 Cl^- 参与。

5. 两个光系统的连接

在叶绿体中发现了细胞色素(电位 +0.37 伏),质醌(PQ,电位 0～0.1 伏),质蓝素(PC,是含铜的蛋白质,电位 +0.39 伏)。这三种成分,都能被长波光(系统 I 吸收)所氧化,被短波光(系统 II 吸收)所还原。它们应处于两个光系统之间,连接两个系统,传递电子。PQ 和 PC 从叶绿体除去后,光合受阻;再加回,光合复原。叶绿体中还存在细胞色素 b 族的物质,可能有几种,有的可被光系统 I 氧化,被光系统 II 还原。

推测两系统间电子传递顺序大致是:

$$\rightarrow \underset{\text{系统 II}}{P680} \rightarrow Q \rightarrow PQ \rightarrow b \rightarrow f \rightarrow PC \rightarrow \underset{\text{系统 I}}{P700} \rightarrow$$

6. 荧光研究

研究光合作用的荧光,可以探索原初光反应的信息。(1) 绿藻(小球藻)的荧光量子产量,在光系统 I(长波光)单独激发时,也发生红降现象。(2) 红藻(紫球藻)被系统 II 吸收的光激发时,荧光较强,且激发光增强时,荧光强度成倍增加;被系统 I 吸收的光激发时,荧光较弱,且激发光增强时,荧光并不大增强,较稳定。(3) 蓝绿藻(拟囊藻)被系统 II 激发时,荧光强烈,同时照射系统 I 吸收的光,荧光几乎消失。推测在系统 II 的还原端有电子受体 Q,被系统 II 全部还原之后,激发光转变成荧光放出。若同时激发系统 I,会使 Q 处于氧化态,猝灭荧光。

7. 两个光反应的生化分离

杀草剂 3-(3′, 4′-二氯苯酚)-1, 1-二甲基脲(DCMU,俗名敌草隆)能抑制光反应 II,停止 H_2O 的光氧化放 O_2,不能用 H_2O 去还原细胞色素 f 和 $NADP^+$。但系统 I 仍存活,可以光氧化细胞色素 f。DCMU 的作用可能是切断了系统 II 和系统 I 之间的电子传递。靛酚染料,如二氯酚吲哚酚(DPIP)可以在两系统之间接受电子(来自系统 II)或供应电子(给系统 I)。叶绿体的光合作用被 DCMU 抑制时,可以利用还原态的 DPIPH 去光还原 fd 和 $NADP^+$。但抑制系统 I 而分离出系统 II 来则较难。

8. 光(合)磷酸化与双光系统的关系

在远红光照射下(系统 I 激发),循环光磷酸化作用存在,并且在入射光的波长增加时(使能量相等),循环光磷酸化的速率增加。在相同的条件下,非循环光磷酸化的速率下降,与光

合作用的表现相似。叶绿体老化时,循环光磷酸化受影响小,非循环光磷酸化受影响大。抑制非循环光磷酸化的 DCMU 浓度,不抑制以 PMS 为辅助因子的循环光磷酸化。推测循环光磷酸化只与光系统 I 有关,而非循环光磷酸化需要两个光系统。

9. 藻类变种

绿藻(衣藻、栅藻、虫藻)经某些处理,可以失去光合链上的某个环节,降低用 H_2O 去光还原 $NADP^+$ 的速率。衣藻的一个变种,缺乏 P700,不能光氧化某些细胞色素,不能光还原 $NADP^+$,不能进行循环光磷酸化,而能用 DPIP 进行希尔反应。它失去了光系统 I,而系统 II 存活。缺乏光系统 II 的栅藻变种,也缺乏光系统 II 所发射的"延迟荧光"。

10. 两个光系统在结构上的部分分离

用超声波、高压、毛地黄苷或洗涤剂处理,再分部离心等方法,能够从叶绿体的裂片中分离出大致两种颗粒:(1)小而轻者,(2)大而重者。前者含叶绿素 a 相对多,后者含叶绿素 b 相对多;前者含色素 P700,后者无之;前者含 Fe 较多,后者含 Mn 较多;前者含细胞色素 f 多,后者含细胞色素 b 多;光还原靛酚染料的能力,前者小,后者大;利用还原态靛酚去光还原 $NADP^+$ 的能力,前者大,后者小;荧光的量子产量,也是前者小,后者大。所以,从成分和功能两方面来看,前者(轻颗粒)主要含有系统 I,后者(重颗粒)主要含有系统 II。进一步的分离,已将系统 I 颗粒弄得相当纯了,除了蛋白质,叶绿素 a,P700 之外,很少有其他东西。推测在两系统之间的结构区域,联系较薄弱,可用多种方法断开。

虽然"Z 方案"能够容纳较多的事实,但仍是一种工作假说,并非定论。有人承认有两个光反应系统,但不同意"Z 方案"(串联式)。也有根本否定两个光系统存在的。据报道,国内有人认为双光说不能解释若干重要的实验事实,从叶绿体是半导体的意见出发,提出了叶绿体"电子催化理论",并且用无机半导体(如 ZnO)代替叶绿体进行人工模拟研究,利用近紫外光或可见光把 $NADP^+$ 还原成 NADPH。

国外模拟光合过程的设计方案,颇有一些受到双光反应说的影响。其实,人工模拟试验和植物体内的生理过程不是一码事,两者的条件有根本的不同。对两者进行研究,可以互相启发,但不能互相肯定,也不能互相否定。

第四节 光合作用的碳素转化

一、 碳素途径 I:CO_2 还原循环(C_3 循环)

早在十九世纪中期,已经证明了:在光合过程中,同化的 CO_2 产生了淀粉。显然,淀粉是由单糖转变而成的。所以,CO_2 如何转变成单糖,就成为光合作用研究工作的一个重要问题。这一问题直到二十世纪五十年代,才获得基本解决。也只有到那个时候,才具备了解决这个问题的物质条件。

主要采用单细胞绿藻——小球藻(*Chlorella sp.*)和栅藻(*Scenedesmus sp.*)为实验材料,在 $^{12}CO_2$ 光合达到稳恒态之后,喂饲放射性的 $^{14}CO_2$,再进行短暂时间的光合,用沸腾或极冷的酒精将细胞立即杀死并把光合产物提取,浓缩,用双相纸上层析法把产物分离开来,鉴定出分子种类,用放射自影法鉴别何种分子含有 ^{14}C,再用化学方法或微生物学方法将分子拆开,鉴定分子中各碳原子间 ^{14}C 的分布数量。根据不同光合时间的 ^{14}C 追踪实验和不同试

验条件下的动力学分析,终于弄清了:(1)CO_2光合同化的初产物,(2)中间产物出现的顺序,(3) CO_2的受体。认为碳素转化的途径是一个循环过程。经过多年的争论和多种植物的再研究,目前一般认为该循环的各步骤如下。

1. CO_2 光合同化的初产物——磷酸甘油酸

喂饲 $^{14}CO_2$ 进行光合 30 秒钟, ^{14}C 即出现于许多物质中(包括磷糖、蔗糖、氨基酸、有机酸)。显然,时间太长了。将时间缩短到 5 秒钟,则 90% 的放射性集中到一个物质——3-磷酸甘油酸上。在3-磷酸甘油酸分子中,羧基碳原子最先标记 ^{14}C; 只在长时间(几分钟)的光合之后,其他两个碳原子上才增多放射量。因此认为, $^{14}CO_2$ 首先被其"受体"(以 A 代表)所固定,产生 3-磷酸甘油酸:

$$^{14}CO_2 + \underset{CO_2\text{受体}}{A} \longrightarrow \begin{array}{c} ^{14}COOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2O\text{Ⓟ} \end{array}$$

3-磷酸甘油酸

现已确定, 3-磷酸甘油酸是光合作用同化 CO_2 的第一个稳定的产物, 这是一个固定过程,将 CO_2 固定在 3-磷酸甘油酸的羧基上。至于受体 A 究竟是什么物质, 将在后面叙述。

2. 中间产物——磷糖的转化顺序

光合作用同化 $^{14}CO_2$ 一开始, ^{14}C 首先出现于 3-磷酸甘油酸中。随着照光时间的延长, ^{14}C 进入许多种糖中, 其中包括丙糖(C_3), 丁糖(C_4), 戊糖(C_5), 己糖(C_6)和庚糖(C_7)。这些糖都呈磷酸酯的形式存在。将这些糖磷酸酯降解,测定每个 C 原子的比放射性强度(在 C 上标以 * 号的多少表示比活性的大小), 发现 ^{14}C 在糖分子中的分布是不平均的。例如, 栅藻在光合稳恒态下暴露于 $^{14}CO_2$ 中 5.2 秒钟之后,四种光合产物中 ^{14}C 分布百分率如下:

3-磷酸甘油酸	果 糖	核酮糖	景天庚酮糖
***C 82%	C 3%	*C 11%	C 2%
C 6%	C 3%	*C 10%	C 2%
C 6%	**C 42%	***C 69%	**C 28%
	**C 43%	C 5%	*C 24%
	C 3%	C 3%	**C 27%
	C 3%		C 2%
			C 2%

根据中间产物的动态及其 ^{14}C 分布的分析, 参考了呼吸与发酵过程中碳素代谢的生物化学资料,认为糖磷酸酯的转化步骤如下:

(1) *3-磷酸甘油酸还原成丙糖*　把 3-磷酸甘油酸的羧基还原成丙糖的醛基, 需经两个酶促步骤,先是羧基磷酸化,再还原成醛基:

$$\underset{\text{3-磷酸甘油酸}}{\begin{array}{c} ^{***}COOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O\text{Ⓟ} \end{array}} + ATP \xrightarrow{\text{3-磷酸甘油酸激酶}} \underset{\text{1, 3-二磷酸甘油酸}}{\begin{array}{c} ^{***}COO\text{Ⓟ} \\ | \\ HCHOH \\ | \\ CH_2O\text{Ⓟ} \end{array}} + ADP$$

$$\begin{array}{c}{}^{***}COO-Ⓟ \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{1, 3-二磷酸甘油酸}\end{array} + NADPH + H^+ \xrightarrow{\text{3-磷酸甘油醛脱氢酶}} \begin{array}{c}{}^{***}CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{3-磷酸甘油醛}\end{array} + NADP^+ + Pi$$

这种转化需要能量(ATP)和还原剂(NADPH)，这两种物质来自“光反应”阶段(见第三节)。

(2) **由丙糖合成己糖** 3-磷酸甘油醛在磷酸丙糖异构酶催化之下，产生磷酸二羟丙酮：

$$\begin{array}{c}{}^{**}CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{3-磷酸甘油醛}\end{array} \xrightarrow{\text{磷酸丙糖异构酶}} \begin{array}{c}{}^{*}CH_2OH \\ | \\ C=O \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{磷酸二羟丙酮}\end{array}$$

在恒态光合时，磷酸二羟丙酮库可大于3-磷酸甘油醛库15倍，且后者较直接地来自3-磷酸甘油酸，所以短期光合作用中，3-磷酸甘油醛末端碳的比活性要比磷酸二羟丙酮的大。

磷酸二羟丙酮经常可鉴定出。在离体菠菜叶绿体光合同化 $^{14}CO_2$ 时，已鉴定出含有 ^{14}C 的3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮。

然后，磷酸甘油醛与磷酸二羟丙酮各一分子，在醛醇缩合酶的催化之下，缩合成己糖磷酸酯：

$$\begin{array}{c}{}^{**}CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{3-磷酸甘油醛}\end{array} + \begin{array}{c}{}^{*}CH_2OH \\ | \\ C=O \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{磷酸二羟丙酮}\end{array} \xrightarrow{\text{醛缩酶}} \begin{array}{c}CH_2O-Ⓟ \\ | \\ C=O \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CHOH \\ | \\ CH_2-O-Ⓟ \\ \text{1, 6-二磷酸果糖}\end{array} \quad \begin{array}{c}C-1 \\ | \\ C-2 \\ | \\ {}^{*}C-3 \\ | \\ {}^{**}C-4 \\ | \\ C-5 \\ | \\ C-6\end{array}$$

(3) **己糖与丙糖合成戊糖与丁糖** 先是1, 6-二磷酸果糖在己糖二磷酸酶催化下水解去掉C-1上的磷酸基，形成6-磷酸果糖，然后在转羟乙醛基酶及其辅酶——焦磷酸硫胺参与下，把6-磷酸果糖的末端两碳(包括酮基在内)转移到磷酸甘油醛的醛基上，形成磷酸赤藓糖和磷酸木酮糖：

$$\begin{array}{c}\boxed{\begin{array}{c}CH_2OH \\ | \\ C=O\end{array}} \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{6-磷酸果糖}\end{array} + \begin{array}{c}CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{3-磷酸甘油醛}\end{array} \underset{}{\overset{\text{焦磷酸硫胺}, Mg^{++}}{\rightleftharpoons}} \begin{array}{c}CHO \\ | \\ HCOH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{4-磷酸赤藓糖}\end{array} + \begin{array}{c}\boxed{\begin{array}{c}CH_2OH \\ | \\ C=O\end{array}} \\ | \\ HOCH \\ | \\ HCOH \\ | \\ CH_2O-Ⓟ \\ \text{5-磷酸木酮糖}\end{array} \quad \begin{array}{c}C-1 \\ | \\ C-2 \\ | \\ {}^{***}C-3 \\ | \\ C-4 \\ | \\ C-5\end{array}$$

由酮糖拆下的 C_2 基团与焦磷酸硫胺相结合，转移到醛糖的 —CHO 上，从而形成另一对酮糖和醛糖，这一反应是可逆的。

(4) **丁糖与丙糖合成庚糖**

$$CH_2OH-C(=O)-CH_2O(P) + CHO-HCOH-HCOH-CH_2O(P) \xrightarrow{\text{醛缩酶}} CH_2O(P)-C(=O)-HOCH-HCOH-HCOH-HCOH-CH_2O(P)$$

(C—1, C—2, **C—3, *C—4, **C—5, C—6, C—7)

磷酸二羟丙酮　4-磷酸赤藓糖　　1, 7-二磷酸景天庚酮糖

产物1, 7-二磷酸景天庚酮糖也在己糖二磷酸酶的作用下，水解掉C-1上的磷酸基，形成7-磷酸景天庚酮糖。

(5) **庚糖与丙糖合成戊糖**

$$CH_2OH-C(=O)-HOCH-HCOH-HCOH-HCOH-CH_2O(P) + CHO-HCOH-CH_2O(P) \underset{}{\overset{\text{焦磷酸硫胺, }Mg^{++}}{\rightleftharpoons}} CH_2OH-C(=O)-HOCH-HCOH-CH_2O(P) + CHO-HCOH-HCOH-HCOH-CH_2O(P)$$

(**C—1, *C—2, **C—3, C—4, C—5)

7-磷酸景天庚酮糖　3-磷酸甘油醛　　5-磷酸木酮糖　5-磷酸核糖

这一可逆反应为转羟乙醛基酶所催化，C_2基团为焦磷酸硫胺所转移。

(6) **戊糖异构化**　反应3和5产生的两种磷酸戊糖——5-磷酸核糖和5-磷酸木酮糖，在相关的异构酶催化下，都形成5-磷酸核酮糖：

$$CH_2OH-C(=O)-HOCH-HCOH-CH_2O(P) \xrightarrow{\text{磷酸核酮糖-3-差向异构酶}} CH_2OH-C(=O)-HCOH-HCOH-CH_2O(P)$$

5-磷酸木酮糖　　5-磷酸核酮糖

$$CHO-HCOH-HCOH-HCOH-CH_2O(P) \xrightarrow{\text{磷酸核糖异构酶}} CH_2OH-C(=O)-HCOH-HCOH-CH_2O(P)$$

5-磷酸核糖　　5-磷酸核酮糖

(7) **1, 5-二磷酸核酮糖的形成**　在有关酶的催化之下，利用光反应产生的ATP，形成1, 5-二磷酸核酮糖：

```
CH2OH                        CH2O(P)                 *C—1
 |                            |                        |
C=O                          C=O                     *C—2
 |                  激酶        |                        |
HCOH     + ATP  ————→     HCOH       + ADP       **C—3
 |                            |                        |
HCOH                         HCOH                     C—4
 |                            |                        |
CH2O(P)                      CH2O(P)                  C—5
5-磷酸核酮糖                  1, 5-二磷酸核酮糖
```

上列各步反应中所得的产物，其放射性 ^{14}C 的分布与短期光合的实验结果相符合：(1) 3-磷酸甘油酸的羧基标记化合物，在短期光合实验中发现；(2) 由 3-磷酸甘油酸，经 3-磷酸甘油醛和磷酸二羟丙酮，形成的 6-磷酸果糖在 C-3 和 C-4 上标记，且 C-4 的比活性往往大于 C-3 者；(3) 1, 7-二磷酸景天庚酮糖的放射性集中在 C-3, C-4, C-5 上，且 C-3 与 C-5 上的活性较大，而 C-4 上的较小；(4) 两个 5-磷酸木酮糖在 C-3 上标记，一个 5-磷酸核糖在 C-1, C-2, C-3 上标记，它们都转成 5-磷酸核酮糖或 1, 5-二磷酸核酮糖之后，则磷酸戊酮糖的标记总表现应为：C-1 和 C-2 标记相似并较轻，C-3 着重标记。

3. CO_2 受体——1, 5-二磷酸核酮糖

根据动力学的分析，认为 CO_2 的受体是五碳化合物 1, 5-二磷酸核酮糖。

(1) *光强度动力学分析* 栅藻在 $^{14}CO_2$ 中进行光合作用 5～10 分钟，中间产物的放射性已达饱和(各 ^{14}C 原子的比活性与气相中 CO_2 的相等)，并且中间产物已达稳恒态，但终产物——蔗糖却随光照延长而不断累积(图 11-6)。可见，碳素在光合作用过程中的一部分途径是循环式的，消耗了 CO_2，累积了蔗糖，而中间产物生而即失，失而复生，其浓度保持恒定。这时，如果光照突然停止，稳恒态即遭破坏，中间产物的浓度不再恒定。特别是两个物质的量发生了相反的变化：1, 5-二磷酸核酮糖下降，3-磷酸甘油酸上升(图 11-7)。这指示，1, 5-二磷酸核酮糖接受了 CO_2，产生了 3-磷酸甘油酸：

$$1,5\text{-二磷酸核酮糖} + CO_2 \longrightarrow (2)\ 3\text{-磷酸甘油酸}$$

由于光照停止(ATP 和 NADPH 不再供应)，3-磷酸甘油酸不能进一步转化而累积起来；1,5-二磷酸核酮糖消耗于羧化反应而来路切断(5-磷酸核酮糖和 ATP 不再供应)，因而其浓度下降。

(2) *二氧化碳浓度动力学分析* 如果碳素途径是循环式的，并且 1, 5-二磷酸核酮糖的确是 CO_2 的受体，那么在光强度不改变时，突然降低 CO_2 浓度，稳恒态也要被破坏，但 1, 5-二磷酸核酮糖的量应当上升，3-磷酸甘油酸的量应当下降。实验事实正是如此(图 11-8)。

可见 CO_2 固定的酶促反应是：

```
                          ┌                    ┐      H2CO(P)
CH2O(P)                   │         H2CO(P)    │       |
 |                        │          |         │      HCOH
CO                        │ HOO14C—COH         │       |
 |                        │          |         │  H2O  14COOH
HCOH     + 14CO2  ——→     │         C=O        │ ——→   +
 |                        │          |         │      COOH
HCOH                      │         HCOH       │       |
 |                        │          |         │      HCOH
CH2O(P)                   │         H2CO(P)    │       |
                          └                    ┘      H2CO(P)
1, 5-二磷酸核酮糖            假设的 C6 中间产物          3-磷酸甘油酸
```

催化此反应的酶叫做1,5-二磷酸核酮糖羧化酶，又叫做羧基歧化酶，因为在这个过程中，把一个羰基氧化成羧基，另一个羰基还原成醇基。就是说，同化一个 CO_2，只能产生一个羧基。

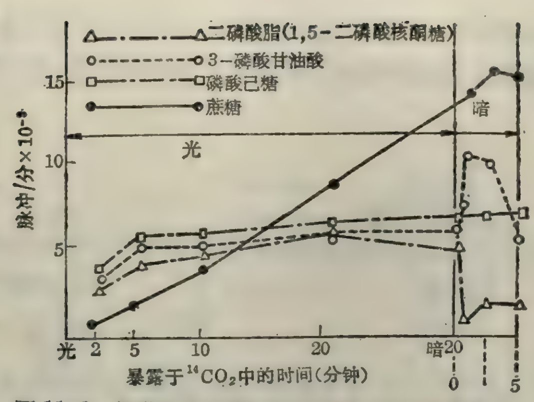


图 11-6 栅藻在光和暗下中间产物的放射性变化

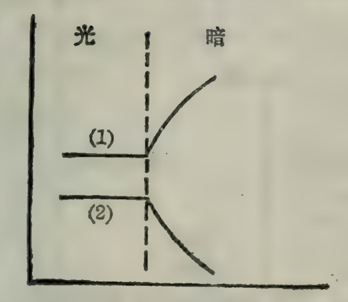


图 11-7 光照突然停止时对两种物质相对存量的影响(示意图)

(1) 3-磷酸甘油酸

(2) 1, 5-二磷酸核酮糖

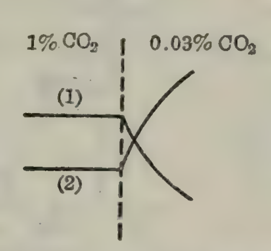


图 11-8 CO_2 浓度突然改变时对两物质相对存量的影响(示意图)

(1) 3-磷酸甘油酸

(2) 1, 5-二磷酸核酮糖

4. C_3 循环

把上述诸反应连接起来，构成一个循环图式(图 11-9)，叫做光合碳素还原循环，或磷酸戊糖还原循环，近来又叫做"C_3 循环"，因为 CO_2 固定的产物(3-磷酸甘油酸)和还原产物(3-磷酸甘油醛)都是三碳化合物。

这循环的一个完整的运转，即中间产物收支平衡，要羧化三次：三个 1, 5-二磷酸核酮糖固定三个 CO_2，产生六个 3-磷酸甘油酸，其中一个转化为产品——3-磷酸甘油醛，而五个 3-磷酸甘油酸转成五个丙糖，再变成三个 1, 5-二磷酸核酮糖。其净效果是，同化三个 CO_2，消耗六个 NADPH、九个 ATP、五个 H_2O，生成一个磷酸丙糖——3-磷酸甘油醛：

$$\underset{\text{(RuDP)}}{(3)\,1,5\text{-二磷酸核酮糖}} + 3CO_2 \xrightarrow{9ATP+6NADPH+5H_2O} \text{3-磷酸甘油醛} + \underset{\text{(RuDP)}}{(3)\,1,5\text{-二磷酸核酮糖}}$$

C_3 循环全部都是暗反应，其酶系存于叶绿体的间质中。步骤 1、6、9、13，在光下活化，是速率调节步骤。各酶促步骤都可以用离体酶重演，并且已在离体酶系实验中把 CO_2 合成了 6-磷酸果糖。试验证明，该循环存在于植物界的许多门中。现在认为，C_3 循环是普遍地存在于所有的光合植物中的光合碳素途径。

在稳恒态光合作用时，C_3 循环在恒稳地运转着。为了维持这种状态，需要从循环的外部供给能量，这种能量的形式即是 ATP 和 NADPH，它们是通过"光反应"由光能转变来

的。这些能量，一部分（90%）贮藏在光合终产物中，另一部分（10%）为循环的运行所消耗。这个循环还能够自动催化，每同化 15 个 CO_2，产生出 18 个 RuDP，增多 CO_2 的受体，发生正反馈。

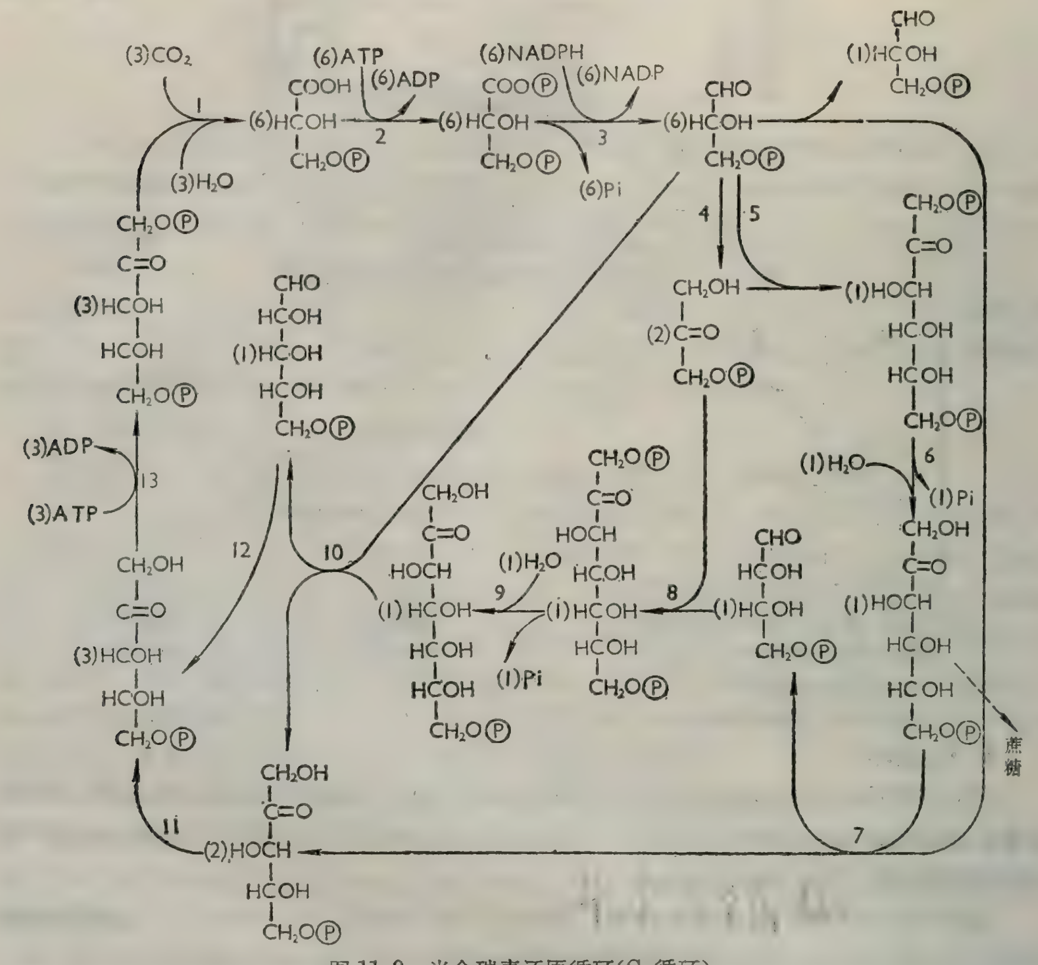


图 11-9 光合碳素还原循环(C_3 循环)

1. 二磷酸核酮糖羧化酶 2. 磷酸甘油酸激酶 3. 磷酸甘油醛脱氢酶 4. 磷酸丙糖异构酶 5. 醛缩酶 6. 己糖二磷酸酶 7. 转羟乙醛基酶 8. 醛缩酶 9. 己糖二磷酸酶 10. 转羟乙醛基酶 11. 差向异构酶 12. 磷酸戊糖异构酶 13. 磷酸核酮糖激酶

二、碳素途径 II：CO_2 固定循环（C_4 循环）

早在二十世纪五十年代，正当人们的注意力集中在研究 C_3 循环的时候，有人发现在甘蔗叶片的光合作用中，同化 $^{14}CO_2$ 的早期产物不是 3-磷酸甘油酸、3-磷酸甘油醛这样的 C_3 物质，而是四碳二羧基有机酸及其衍生物。后来在玉米中也得到相同的结果。甘蔗叶片光合同化 $^{14}CO_2$ 的时间进程是：一秒钟内，^{14}C 进入苹果酸（在其 C-4 标记）和天冬氨酸两种物质的量占 93%，然后进入 3-磷酸甘油酸（在其 C-1 标记），最后进入蔗糖。六十年代下半期和七十年代以来，广泛的实验事实指出，在这类植物（叫做"C_4 植物"）中，光合作用过程有一条不同于 C_3 循环的碳素途径——C_4 循环。关于此途径及其有关问题，正在深入研究中，

各家意见亦不一致。兹将一种有代表性的观点介绍于下。

(1) 这一途径对 CO_2 的固定不是通过二磷酸核酮糖羧化酶，而是通过磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶：

$$\underset{\text{磷酸烯醇式丙酮酸}}{\begin{array}{l}CH_2\\ \Vert\\ C-O-Ⓟ\\ |\\ COOH\end{array}} + {}^{14}CO_2 + H_2O \xrightarrow[\text{羧化酶, }Mg^{++}]{\text{磷酸烯醇式丙酮酸}} \underset{\text{草酰乙酸}}{\begin{array}{l}{}^{14}COOH\\ |\\ CH_2\\ |\\ C=O\\ |\\ COOH\end{array}} + Pi$$

此酶催化磷酸烯醇式丙酮酸的羧化反应，平衡强烈地趋向羧化方向。羧化发生在草酰乙酸的第四碳原子上，即 β-羧化。

(2) 草酰乙酸在 NADP 专一性的苹果酸脱氢酶作用下，还原成苹果酸：

$$\underset{\text{草酰乙酸}}{\begin{array}{l}{}^{14}COOH\\ |\\ CH_2\\ |\\ C=O\\ |\\ COOH\end{array}} \xrightarrow[\text{NADPH}\ \frown\ \text{NADP}^+]{\text{苹果酸脱氢酶}} \underset{\text{苹果酸}}{\begin{array}{l}{}^{14}COOH\\ |\\ CH_2\\ |\\ CHOH\\ |\\ COOH\end{array}}$$

(3) 苹果酸在苹果酸酶的作用下，发生氧化脱羧，放出 CO_2：

$$\underset{\text{苹果酸}}{\begin{array}{l}{}^{14}COOH\\ |\\ CH_2\\ |\\ CHOH\\ |\\ COOH\end{array}} \xrightarrow[\text{NADP}^+\ \frown\ \text{NADPH}]{\text{苹果酸酶}} \underset{\text{丙酮酸}}{\begin{array}{l}CH_3\\ |\\ C=O\\ |\\ COOH\end{array}} + {}^{14}CO_2$$

(4) 丙酮酸在丙酮酸无机磷酸二激酶催化之下，转变成磷酸烯醇式丙酮酸，就是把 CO_2 的受体再产生出来，从而完成了一个循环。

$$\begin{array}{l}CH_3\\ |\\ C=O\\ |\\ COOH\end{array} + ATP + Pi \xrightarrow[Mg^{++}]{\text{丙酮酸无机磷酸二激酶}} \begin{array}{l}CH_2\\ \Vert\\ C-O-Ⓟ\\ |\\ COOH\end{array} + AMP + PPi$$

催化丙酮酸转化为磷酸烯醇式丙酮酸的这个特殊反应的酶——丙酮酸无机磷酸二激酶 (Pyruvate phosphate dikinase)，是在 C_4 植物中新发现的一个过去未知的酶。它需要 ATP 和无机磷酸的存在，并把 ATP 的一个 ～P 转到无机磷酸上形成焦磷酸，把 ATP 的另一个 ～P 转到丙酮酸的酮基上形成磷酸烯醇式丙酮酸。这个酶在光下活化，暗下失活。

(5) AMP 转化成 ADP：

$$AMP + ATP \xrightarrow{\text{腺苷酸激酶}} 2\,ADP$$

(6) 焦磷酸水解成无机磷酸：

$$PPi + H_2O \xrightarrow{\text{焦磷酸酶}} 2Pi$$

这两个反应产生的 ADP 和 Pi 又可参与光反应再生成 ATP。

将上述各主要步骤连接起来构成一个循环过程，叫做 C_4 循环(图 11-10)。此循环也可通过二羧基有机酸的氨化产生天冬氨酸来完成(图 11-11)。

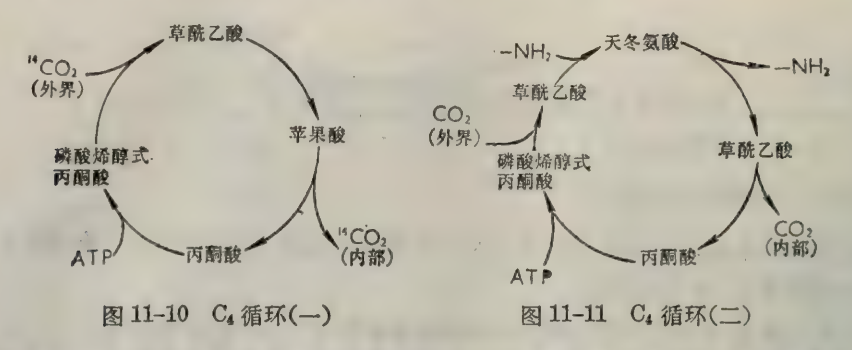
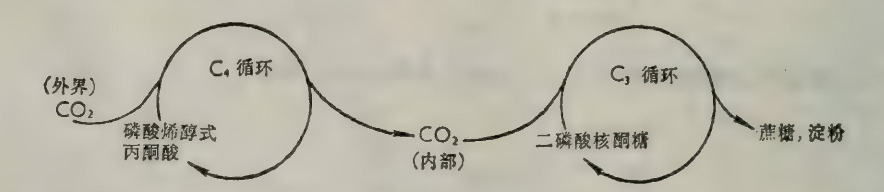


图 11-10　C_4 循环(一)　　　　图 11-11　C_4 循环(二)

C_4 循环的各步骤都是暗反应，但只在光下才开动起来。因为丙酮酸无机磷酸二激酶是受光控制的，而且另外两个酶(腺苷酸激酶，焦磷酸酶)是光敏色素所诱导的。根据照光下 $^{14}CO_2$ 的 ^{14}C 先出现于草酰乙酸、苹果酸和天冬氨酸中，然后才出现于 3-磷酸甘油酸的 C-1 上，认为 C_4 循环并不还原 CO_2，而是把 CO_2 转运给 C_3 循环来还原成糖:



C_4 循环对 CO_2 只起固定作用，把外界大气中的 CO_2 转移到叶子的内部，使内部的 CO_2 浓度增加。它的作用好象一个以 ATP 为动力的"CO_2 泵"。虽然 C_4 循环要多消耗 ATP (每循环一次，转运一个 CO_2，需要两个 ATP)，但却保证了叶子内部高浓度的 CO_2 供应，使二磷酸核酮糖羧化酶以及 C_3 循环处于比大气 CO_2 浓度(当前已上升到平均值 320 ppm)更高的内环境中，从而更多的同化 CO_2 以制造糖类。

兼有 C_4 循环和 C_3 循环的植物叫做"C_4 植物"，只具有 C_3 循环或者 C_3 循环起主要固定 CO_2 作用的植物叫做"C_3 植物"。这种分类方法是按照光合过程的碳素途径的生理生化特点采取的。从植物分类学上看，C_3 植物占绝大多数，农作物中的水稻、三麦、大豆、烟草、菠菜等都是 C_3 植物。C_4 植物已发现四百多种，分散于十几个科中，双子叶植物中和单子叶植物中都有之，而主要属于禾本科和石竹目。农作物中著名的 C_4 植物有甘蔗、玉米、高粱。从生态起源上看，C_4 植物共同特点是热带起源，广泛分布于间歇干旱区域。甚至在同一个属中，热带种是 C_4 植物，温带种是 C_3 植物。

从叶子的组织结构上看，C_4 植物(例如甘蔗、玉米)也有其解剖学上的特点。其叶子横切面上，在叶肉组织中分散着维管束，在维管束鞘细胞中含有大型的叶绿体(围绕着维管束的鞘细胞中存在着密集的大型叶绿体，此种结构在植物解剖学上叫做"花圈结构")。而维管束外面的叶肉细胞中含有小型的叶绿体。两类叶绿体在结构和功能上都有差异。依据酶活力测定和动力学分析，认为 C_4 循环跨联两类叶绿体，初始固定 CO_2 的反应主要位于叶肉细胞的叶绿体中，生成的苹果酸则通过胞间联丝运输到维管束鞘细胞中，在那里释放出 CO_2

来，丙酮酸则运回叶肉细胞，再转成 CO_2 的受体磷酸烯醇式丙酮酸。而 C_3 循环主要位于维管束鞘细胞的叶绿体中，进行 CO_2 的再固定(当然也可以直接从空气中固定一部分)，并还原成糖类。这种观点的基本精神是：C_4 植物的光合作用，包含 C_4 循环和 C_3 循环在时间上的协作，涉及两类细胞和两型叶绿体在空间上的联合(图 11-12)。

也有人认为，磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶存在于叶肉细胞的细胞质里，而两类细胞的叶绿体在光合方面并没有根本差别，两类细胞之间也没有苹果酸-丙酮酸的穿梭运输。C_4 植物与 C_3 植物的差别，主要在于 C_4 植物的叶肉细胞质中有大量的磷酸烯醇式羧化酶。

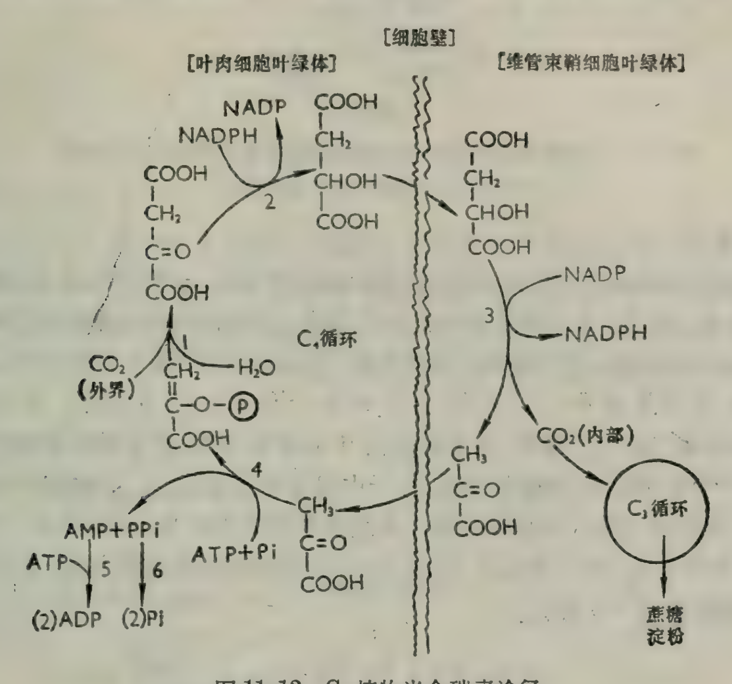


图 11-12 C_4 植物光合碳素途径

1. 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 2. 苹果酸-NADP 脱氢酶 3. 苹果酸酶
4. 丙酮酸无机磷酸二激酶 5. 腺苷酸激酶 6. 焦磷酸酶

三、碳素途径 III：景天酸代谢途径 (CAM 途径)

在 C_4 植物中，固定 CO_2 的 C_4 循环通过磷酸烯醇式丙酮酸的 β-羧化产生了草酰乙酸，还原成苹果酸。这可说是一种形式的“磷酸烯醇式丙酮酸-苹果酸途径”。在照光下，C_4 循环的活性大大增强。但是，还有另一种形式的“磷酸烯醇式丙酮酸-苹果酸途径”。

自然界里有一类属于景天科的多汁肉质植物，它们在夜间固定 CO_2，产生苹果酸，而在白天把苹果酸中的“CO_2”释放出来用于光合作用以制造糖类。因此，它们体内的酸度和糖浓度呈现出相反的昼夜波动。图 11-13 表示的是景天属之一种 (*Sedum praeltum*) 的此种节律变动。这类植物叫做“景天酸代谢植物”(CAM 植物)，其特有的碳素代谢途径叫做“景天酸代谢途径”(CAM 途径)。

景天酸代谢途径包括两部分：(1) CO_2 暗固定(不需光照，但光下也进行)；(2) CO_2 光还原(CO_2 还原本身是暗反应，但只在光下进行)。下面分别简述之。

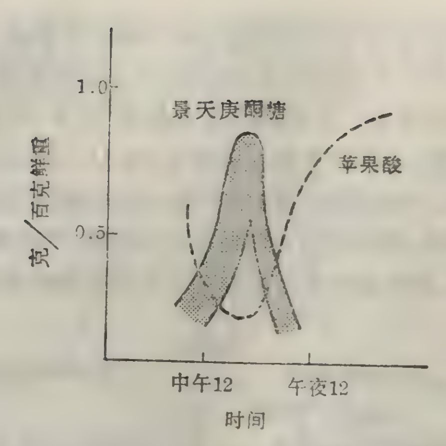


图 11-13 *Sedum praealtum* 的叶子含糖量与含酸量的昼夜波动

(两条实线表示糖量的最高与最低值)

1. CO_2 暗固定

关于 CO_2 固定以形成苹果酸的途径，大体上有两种看法。一种看法认为，夜间糖类通过磷酸戊糖途径的部分反应，发生两次羧化产生苹果酸，即所谓双羧化机理(图 11-14)。以落地生根属(*Bryophyllum sp.*)作为材料，暗下喂饲 $^{14}CO_2$(四秒钟到二十四小时)，在3-磷酸甘油酸中发现 ^{14}C; 在苹果酸中，^{14}C-4 标记占66%，^{14}C-1 标记占33%，即 β-$^{14}COOH$ 与 α-$^{14}COOH$ 的比率是二比一。解释：由淀粉来的6-磷酸葡萄糖，经磷酸戊糖途径产生了二磷酸核酮糖，固定 $^{14}CO_2$ 形成3-磷酸甘油酸，分子中只有半数放射性。3-磷酸甘油酸转成磷酸烯醇式丙酮酸，再固定 $^{14}CO_2$ 转成苹果酸，即表现出标记之比为 $\alpha/\beta=1/2$。以高凉菜属(*Kalanchoë*)和景天属之一种(*Sedum telephium*)的离体叶肉细胞为材料，喂饲 $^{14}CO_2$，都发现在3-磷酸甘油酸中有 ^{14}C 标记。

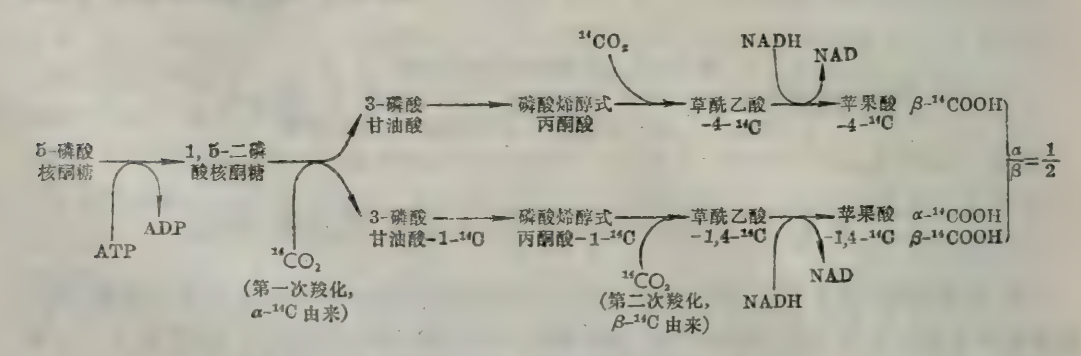


图 11-14 CAM 途径的可能双羧化机理

据推论，这一双羧化机理存在的条件是：(1) 无延胡索酸酶存在，不使苹果酸的 α-^{14}C 和 β-^{14}C 失去不对称性；(2) 糖酵解途径不存在，不使全部的3-磷酸甘油酸都标记；(3) 3-磷酸甘油酸库和磷酸烯醇式丙酮酸库都很小，不使 $^{14}COOH$ 均匀化；(4) 二磷酸核酮糖羧化酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶的速率相等。

另一种看法认为，双羧化机理的实验技术低估了苹果酸的 C-4 上的放射性，主张通过糖酵解途径发生一次羧化形成苹果酸，即所谓单羧化机理。四种景天酸代谢植物的叶子，暗固定 $^{14}CO_2$ 三十秒，苹果酸 ^{14}C-4 标记占85～95%。高凉菜属植物固定 $^{14}CO_2$ 一分钟，苹果

酸的 ^{14}C-4 标记达 82%；固定二十四小时，^{14}C-4 标记占 54%。解释：磷酸烯醇式丙酮酸的 β-羧化乃是景天酸代谢植物固定 CO_2 的主要反应，淀粉磷解的产物通过酵解途径产生的磷酸烯醇式丙酮酸经一次羧化产生苹果酸：

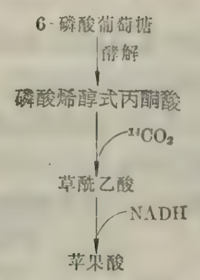


图 11-15 CAM 途径的可能单羧化机理图

2. CO_2 光还原

夜间固定的 CO_2 贮存于苹果酸中(低温下有利于 CO_2 固定)，在白天照光时，苹果酸又将 CO_2 释放出来。一般认为，CO_2 再固定和光下还原是经过 C_3 循环形成糖。

景天酸代谢植物的可能的碳素途径，表示于图 11-16 中。苹果酸脱羧后的产物——丙酮酸的去路如何，尚不清楚。某些景天酸代谢植物也有丙酮酸无机磷酸二激酶，可能形成磷

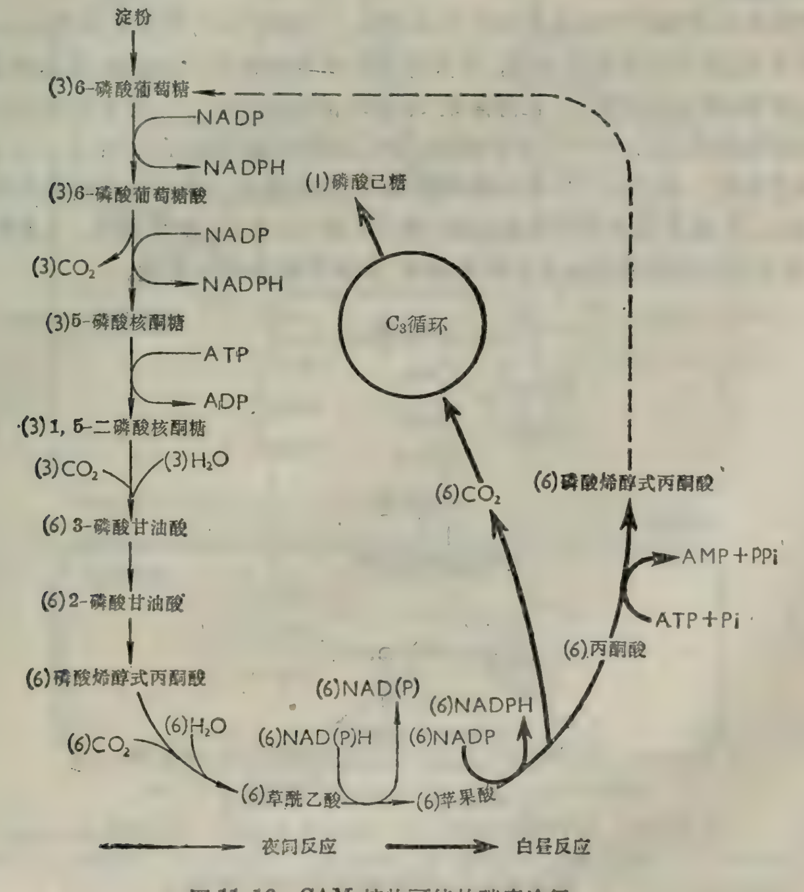


图 11-16 CAM 植物可能的碳素途径

酸烯醇式丙酮酸，它也许经过酵解逆反应形成6-磷酸葡萄糖。

景天酸代谢植物的碳素途径是把 CO_2 固定和 CO_2 还原在时间上分隔开来，同一地点在不同时间(夜晚，白昼)联合进行。而 C_4 植物的碳素途径是把 CO_2 固定和 CO_2 还原在空间上分隔开来，同一时间(在照光时)在不同地点联合进行 C_4 循环和 C_3 循环。自然，景天酸代谢植物也可在同一时间(照光下)进行两部分反应，但因为白天叶子的气孔要关闭(以减小蒸腾失水)，CO_2 的进入植物体必定大大地受到限制了。

景天酸代谢植物见于景天科、仙人掌科、大戟科、番杏科、百合科和石蒜科。许多种类生活于半沙漠、半干旱或沙滩区域。它们特殊的形态结构——肉质的叶或茎，有利于保贮水分，适应干旱生境。它们特有的生理功能——景天酸代谢途径，是旱生环境的从属适应手段。

四、碳素途径 IV：光呼吸与乙醇酸途径

在植物中存在着两种类型的呼吸作用——暗呼吸与光呼吸。所谓暗呼吸，即通常所说的呼吸作用，它的代谢途径已在上一章讨论过了。所谓光呼吸，乃是植物的绿色部分在光照之下表现的呼吸作用(吸 O_2，放 CO_2)。两类呼吸作用在速率方面和代谢途径方面，有显著的不同。光呼吸的速率，伴随着环境中的光强度增高、O_2 浓度增高、CO_2 浓度下降、温度升高等而增高。

光呼吸所牵涉到的代谢途径尚不完全清楚。一般认为光呼吸途径与光合作用的 C_3 循环有密切关系。光呼吸释放的 CO_2，很大部分是来自光合同化的碳素。光呼吸消耗的底物被认为是乙醇酸(即羟基乙酸)，乙醇酸是 C_3 循环的直接产物。一种意见认为，它来自二磷酸核酮糖的加氧酶反应，一个 O_2 分子裂解一个二磷酸核酮糖分子，产生各一分子3-磷酸甘油酸和磷酸乙醇酸。催化这个反应的酶不是别个，恰恰就是二磷酸核酮糖羧化酶。因而 O_2 对于 CO_2 进入 C_3 循环成为竞争性抑制剂(图 11-17)。在 O_2 浓度高时，乙醇酸的产量增加，就是说，光下同化的碳素趋向于乙醇酸途径，削弱了进入糖中的量。

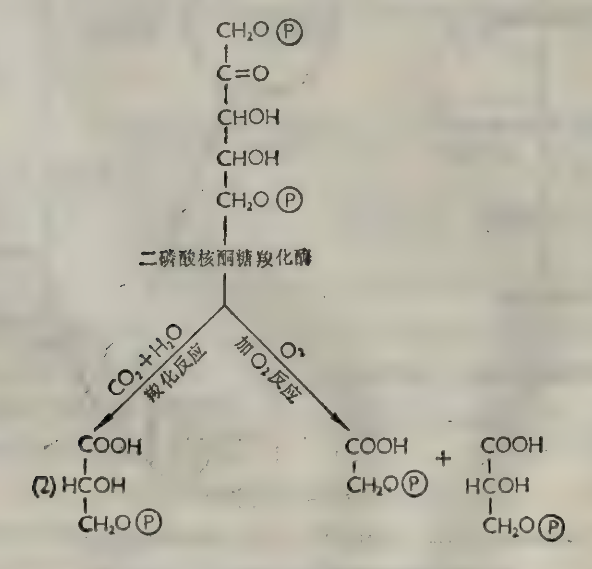


图 11-17 C_3 循环与乙醇酸途径的分歧点

乙醇酸之所以会形成，原因可能是 C_3 循环中二磷酸核酮糖羧化的速率低于它生成的速率。CO_2 浓度低，O_2 浓度高，都会降低二磷酸核酮糖的羧化速率；而强光有利于 3-磷酸甘油酸转变成二磷酸核酮糖，增加其形成速率。所以这些条件能够促进乙醇酸的形成和光呼吸的增强。

光呼吸在暗下不进行，但供给乙醇酸盐时，也就表现出来。乙醇酸代谢途径的概况，如图 11-18 所示。它经历三种细胞器(叶绿体、过氧化体、线粒体)，与中间代谢有多方面的联系，特别是氮素代谢。它的生理意义正在研究中。

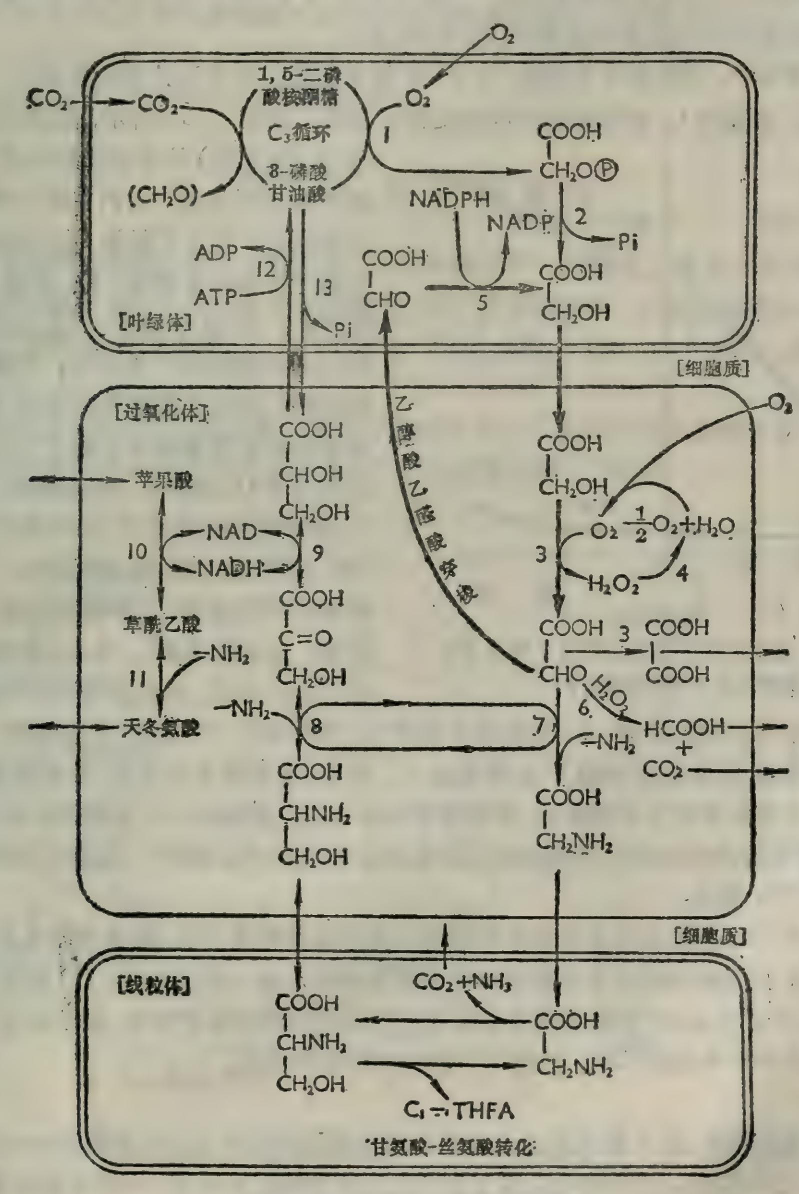


图 11-18　推测的乙醇酸代谢途径

1. 二磷酸核酮糖加氧酶　2. 磷酸乙醇酸磷酸酶　3. 乙醇酸氧化酶　4. 过氧化氢酶　5. 乙醛酸还原酶　6. 非酶反应　7. 谷氨酸-乙醛酸转氨酶　8. 丝氨酸-乙醛酸转氨酶　9. 羟丙酮酸还原酶　10. NAD-苹果酸脱氢酶　11. 谷草转氨酶　12. 甘油酸激酶　13. 磷酸甘油酸磷酸酶

从能量利用和糖的累积方面看，光呼吸与暗呼吸很不相同。暗呼吸虽然消耗掉光合产物——糖类，但提供植物生活所必不可缺的小分子有机物和能量。可以说正是为了使用(暗呼吸释放能量并用于代谢网中)才必须进行生产(光合作用)。光呼吸不是消耗糖类，而是与光合机构密切相关，粗放的说，把光合机构的一些"零件"(ATP, NADPH, 1, 5-二磷酸核酮糖)部分地消耗掉，从而削弱了光合作用对糖类的合成。据图 11-18 所示，光呼吸不提供 ATP 和 NADPH，反而把它们用掉(在乙醛酸还原成乙醇酸时，在甘油酸生成 3-磷酸甘油酸时，分别用掉了一些光合作用光反应产生的 NADPH 和 ATP)。但有人认为，在线粒体中，伴随着甘氨酸转变为丝氨酸的过程中，有 ATP 形成。

在许多植物中，光照促进光呼吸，分子 O_2 能够抑制光合作用并促进光呼吸。但是值得注意的是，C_3 植物与 C_4 植物的光呼吸强度很不相同。如图 11-19 所示，烟草(C_3 植物)比玉米(C_4 植物)的光呼吸强得多，而两者的暗呼吸几乎相等。它们在暗下释放 CO_2 的趋势相似，在光下释放 CO_2 则相差很大。玉米叶片在光下释放 CO_2 的量只及烟草的 2%。原因可能是：(1) 光呼吸的底物——乙醇酸的产量不同。可能是由于 C_3 循环的二磷酸核酮糖羧化酶和 C_4 循环的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶对于 CO_2 的亲合力和对于 O_2 的亲合力的敏感性不相同，使 C_3 植物在强光高温下大大增产乙醇酸。(2) 乙醇酸途径的酶活性不同。乙醇酸途径的三种特征酶(乙醇酸氧化酶，乙醛酸还原酶，过氧化氢酶)，在 C_3 植物(菠菜、烟草、大豆、小麦、向日葵等)叶子匀浆液中的活性普遍地比 C_4 植物(甘蔗、玉米)的高十倍以上。(3) 对于 CO_2 的再利用的能力不同。C_3 植物的光呼吸强，但释放出来的 CO_2 却逃走了。而 C_4 植物的光呼吸弱，其光呼吸途径主要存在于叶子内部的维管束鞘细胞里，光呼吸释放的 CO_2，在逃经叶子边部的叶肉细胞的过程中，又被那里的磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶重新捉住，导入 C_4 循环和 C_3 循环，再加以利用。因此逃掉的 CO_2 很少。

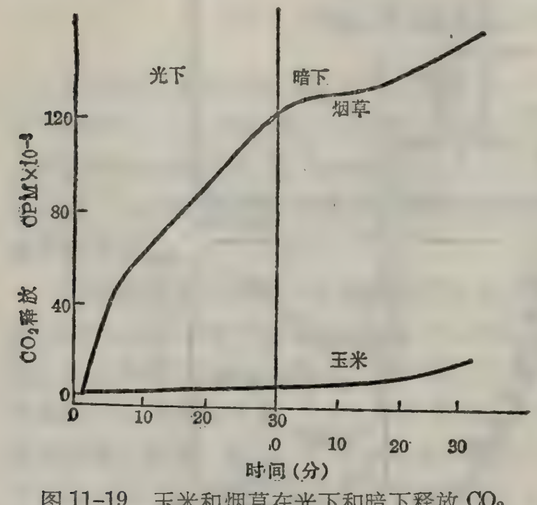


图 11-19 玉米和烟草在光下和暗下释放 CO_2 (30°C 及 21400 米烛光下)

实验证明，C_4 植物的离体维管束鞘细胞在光下能够释放 CO_2(即有光呼吸作用)，但释放出来的 CO_2 立即被同时存在的离体叶肉细胞所吸收。这一事实说明：(1) 所谓"无光呼吸植物"，也是有光呼吸的，把植物划分成有光呼吸和无光呼吸两种类型，是不恰当的；(2) 维管束鞘细胞光呼吸释放的 CO_2，的确可以被叶肉细胞再利用。

六十年代中期以前，人们关于光合作用的碳素途径尚只肯定了一种情况——C_3循环(那时却不会叫这个名字)。十多年来，由于光合碳素途径的积极研究，知识丰富多了。目前看来，C_3 循环，C_4 循环，CAM 途径，乙醇酸途径都应算是光合碳素转化的一部分。C_3 循环的步骤弄清之后，已进入探索其调节控制机理和关键酶(例如二磷酸核酮糖羧化酶的结构和功能)的研究；对后三者的认识，都有不确切之处，研究工作正方兴未艾。

生物界中的碳素代谢是纷繁复杂丰富多采的。光合作用碳素途径的初始阶段并不是只有一条路可走，至于后期阶段那更是多条途径了。实验证明，光合作用同化的 ^{14}C，很快就进入糖类、脂类、氨基酸、有机酸等物质之中，这些物质都可以看作光合作用的产物，产生它们的代谢过程也可以认为是光合碳素途径的一部分。这些物质之进一步转化，进入了中间代谢的复杂联系中去，或使用，或贮藏。不但如此，就是光合作用"光反应"两种产物——NADPH 和 ATP，原不是只能与光合碳素途径相联系，它们也可以离开光合过程而参入其他代谢过程，立即投入中间代谢网。看来可能是这样：光合作用的功能乃是光能的吸收和转化，并且与碳素同化相联系把能量主要地贮藏在糖和脂肪里。因此可以将光合作用的基本特征抽象出来：光合作用是光能的吸收、传递、转化、贮藏的同化过程。广义的说，绿色植物体的一切有机成分，都可看作光合作用的产品。

第五节 蔗糖的合成

蔗糖是植物界普遍存在的一种双糖，而且是数量最大的双糖。蔗糖也是高等植物筛管中糖类长途运输的主要形式。在某些植物中，如甘蔗和糖甜菜，蔗糖是糖类的主要贮藏形式。在光合组织中，蔗糖是由 C_3 循环的中间产物合成的。在非光合组织中，蔗糖也可以由单糖合成。

从结构上看，蔗糖是由葡萄糖和果糖缩合而成的。但是不能用葡萄糖直接合成蔗糖，而必须先把它转变成活化的和转移的形式——尿二磷葡萄糖（UDPG）：

1-磷酸葡萄糖　　尿三磷

尿二磷葡萄糖(UDPG)　　焦磷酸

催化这个反应的酶是尿二磷葡萄糖焦磷酸化酶，平衡常数 $K=1$。如果再与焦磷酸酶催化的焦磷酸水解反应

$$PPi + H_2O \longrightarrow 2Pi$$

相偶联，则反应趋向于生成尿二磷葡萄糖。焦磷酸是由尿三磷的末端两个磷酸根转变来的。

生成尿二磷葡萄糖之后，可以通过两条不同的酶促反应途径合成蔗糖，反应如下：

(1) 尿二磷葡萄糖把葡萄糖转移到果糖上，形成蔗糖：

$$\text{UDPG} + \text{果糖} \longrightarrow \text{蔗糖} + \text{UDP}$$

催化此反应的是蔗糖合成酶，平衡常数 $K=8$ (pH 7.4)。

(2) 尿二磷葡萄糖把葡萄糖转移到6-磷酸果糖上，形成磷酸蔗糖：

$$\text{UDPG} + \text{6-磷酸果糖} \longrightarrow \text{磷酸蔗糖} + \text{UDP}$$

催化此反应的是磷酸蔗糖合成酶，平衡常数 $K=3250$(pH 7.5)或 $K=53$(pH 5.5)，反应大大趋向右方。产生的磷酸蔗糖，在磷酸蔗糖磷酸酶的催化下，水解生成蔗糖：

$$\text{磷酸蔗糖} + H_2O \longrightarrow \text{蔗糖} + \text{Pi}$$

根据①磷酸蔗糖合成酶的活性较大，且平衡常数有利，②磷酸蔗糖磷酸酶的存在量大，③ ^{14}C-葡萄糖喂饲实验结果，即 ^{14}C 出现于自由果糖中较慢，而出现于蔗糖分子中的果糖部分中较快而且浓度高，所以认为途径(2)是蔗糖生物合成的主要途径。

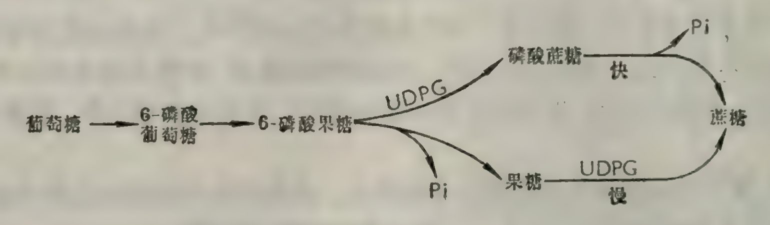


图 11-20 蔗糖合成的可能途径

那么途径(1)的功能何在？有人认为主要是起分解蔗糖的作用，特别是在贮藏淀粉的组织器官里把蔗糖转变成淀粉的时候。由于发现了蔗糖合成酶的两个同功酶，认为一个是催化蔗糖合成的，另一个是催化蔗糖分解的。

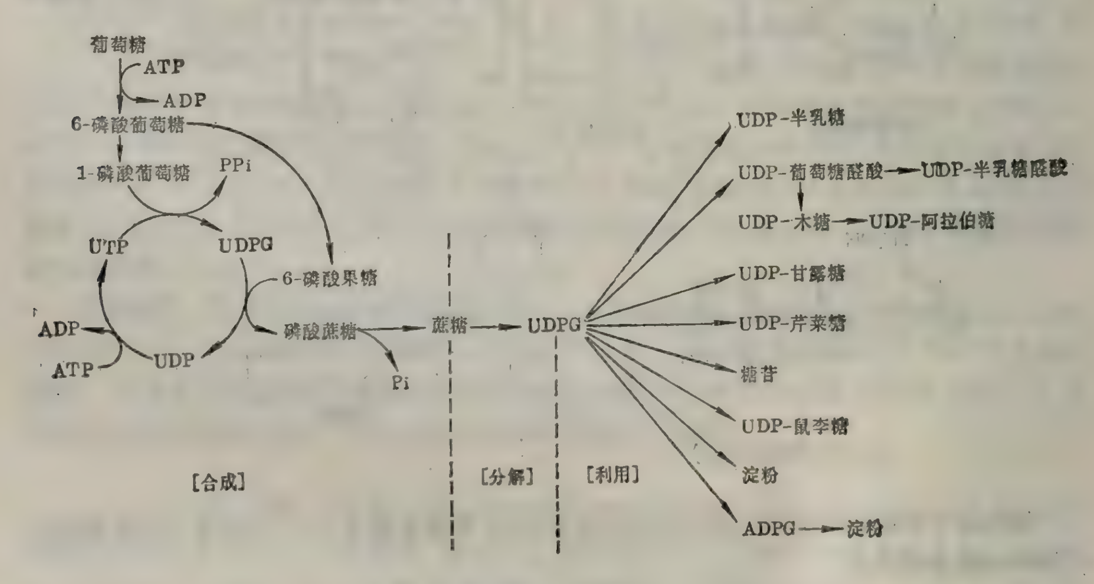


图 11-21 蔗糖的主要代谢途径

至于蔗糖的水解，是转化酶催化的：

$$\text{蔗糖} + H_2O \longrightarrow \text{葡萄糖} + \text{果糖}$$

光合器官——叶在喂饲 $^{14}CO_2$ 进行光合作用时，^{14}C 很快地进入尿二磷葡萄糖、6-磷酸果糖、磷酸蔗糖中。但在叶绿体里，标记蔗糖累积较慢，而在细胞质里累积较快。有人认为，C_3 循环的中间产物——磷酸二羟丙酮能够很快地透过叶绿体包膜进入细胞质中，再转化成蔗糖(图 11-22)。

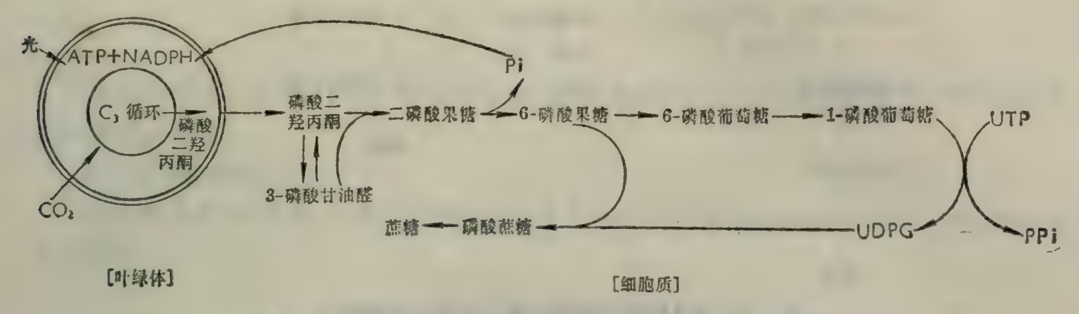


图 11-22 磷酸二羟丙酮离开叶绿体在细胞质中转成蔗糖

第六节 多糖的合成

淀粉是植物界最普遍存在的贮藏多糖。谷类、豆类、薯类等粮食中含有大量淀粉。在高等动物的肌肉和肝脏中，贮藏着动物淀粉——糖元。淀粉和糖元虽然在结构上复杂程度不相同，但它们的生物合成的基本点是相似的：直链的增长是在原有直链上逐步增加葡萄糖残基，支链的增多是把直链的一部分拆下来装配成侧枝。

一、糖元的合成

1. 磷酸化酶

存于肌肉和肝脏中的磷酸化酶能够催化糖元降解，从糖元的直链的末端(非还原端)开始逐步地磷解下葡萄糖残基，生成 1-磷酸葡萄糖(见第十章)。离体的磷酸化酶可以催化相反的反应，以 1-磷酸葡萄糖为底物，把“引物”的直链末端延长：

$$1\text{-磷酸葡萄糖} + \text{引物}(nG) \rightleftharpoons \text{葡糖直链}(n+1)G + Pi$$

在体内，由于代谢的相关性和调节，磷酸化酶主要起糖元降解作用。

2. 糖元合成酶

在肌肉和肝脏中，糖元直链的合成主要是通过糖元合成酶把活化的葡萄糖(即 UDPG 中的 G)转移到引物直链的末端上而成：

$$UDPG + \text{引物}(nG) \longrightarrow \text{葡糖直链}(n+1)G + UDP$$

以肌肉为例，糖元直链的合成与降解如图 11-23 所示。当血糖浓度降低，6-磷酸葡萄糖外流时，肌肉运动需要能量时，或者肾上腺素发挥作用时(见第八章)，导致磷酸化酶 a 磷解糖元直链。当血糖浓度增高时，肌肉中 6-磷酸葡萄糖增多，使糖元合成酶活化，利用 UDPG 合成糖元直链。同时，UDPG 又能抑制磷酸化酶 a 的活性。所以 6-磷酸葡萄糖浓度的变化可能是个关键。

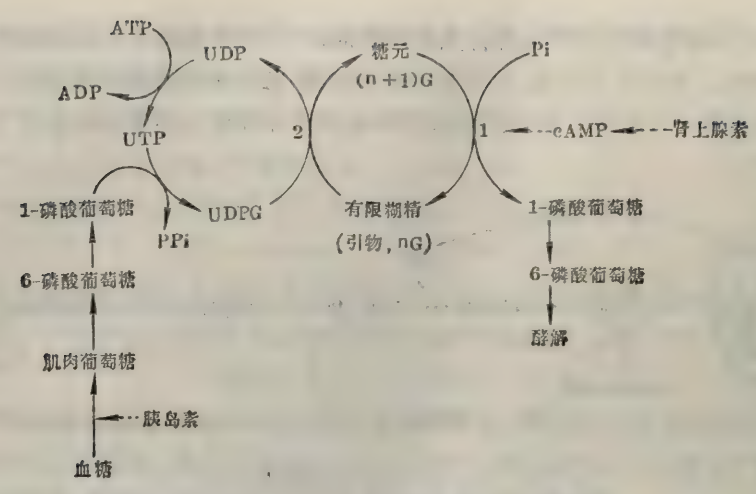
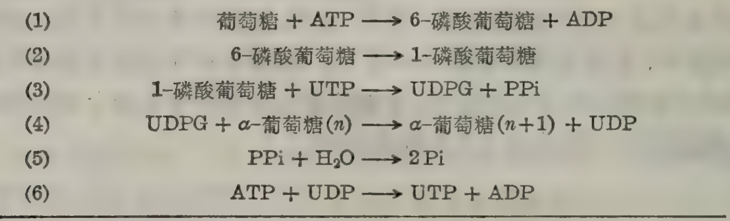


图 11-23 肌肉中糖元的合成和降解

1. 肌肉磷酸化酶 a 2. 糖元合成酶

从血糖开始，每使糖元直链的末端增加一个葡萄糖残基，需要提供两个 ATP，进行六个酶促步骤：



(1) 葡萄糖 + ATP ⟶ 6-磷酸葡萄糖 + ADP

(2) 6-磷酸葡萄糖 ⟶ 1-磷酸葡萄糖

(3) 1-磷酸葡萄糖 + UTP ⟶ UDPG + PPi

(4) UDPG + α-葡萄糖(n) ⟶ α-葡萄糖($n+1$) + UDP

(5) PPi + H_2O ⟶ 2 Pi

(6) ATP + UDP ⟶ UTP + ADP

总计： 葡萄糖+2 ATP + α-葡萄糖(n) ⟶ α-葡萄糖($n+1$) + 2 ADP + 2 Pi

3. 分支酶

上面是糖元分子中“α-D-(1→4)糖苷链”的合成与分解。糖元分子中“α-D-(1→6)糖苷链”的分支点，不是以逐个添加葡萄糖残基的方式形成的，而是在分支酶的作用下，把直

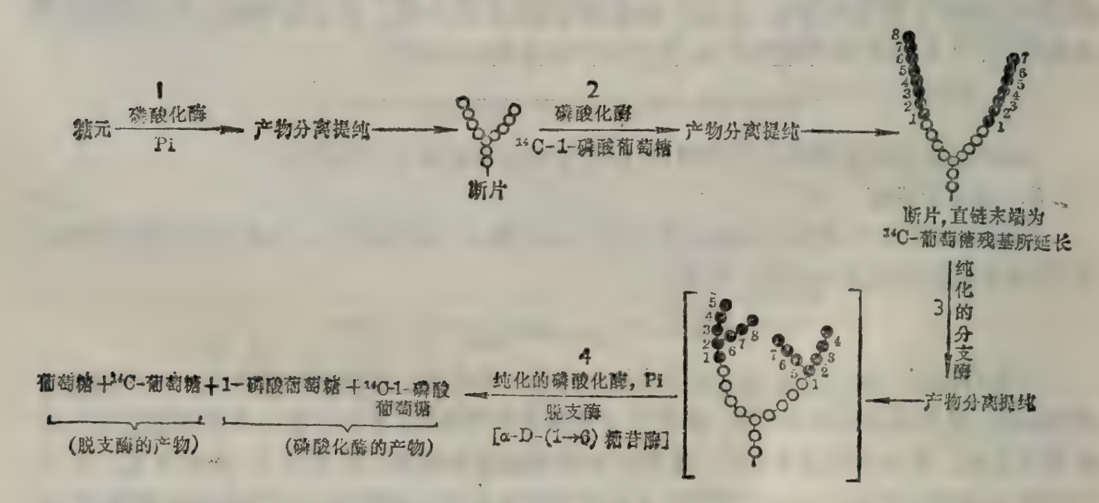


图 11-24 糖元中分支点的形成(离体酶实验)

链上末端的一段拆下来移到链上另一点而形成的。在肝脏中存在着分支酶，这个酶的离体实验证明，它能够把直链末端拆下来的断片的“1”端装到直链上某一葡萄糖残基的“6”位上。整个离体实验的步骤概况如图11-24。

二、淀粉的合成

光合组织中，在光合同化 CO_2 的时候，能够合成淀粉。非光合组织也能够利用葡萄糖或蔗糖合成淀粉。

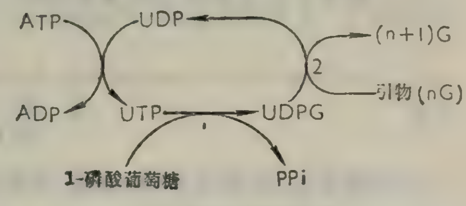
1. 直链淀粉的合成

(1) 磷酸化酶(P 酶)　由马铃薯、豌豆中分离的淀粉磷酸化酶能够催化1-磷酸葡萄糖合成淀粉:

$$1\text{-磷酸葡萄糖} + \text{引物}(nG) \rightleftharpoons \text{淀粉}(n+1)G + Pi$$

所需的引物最小为麦芽三糖，即 $n\geqslant3$。

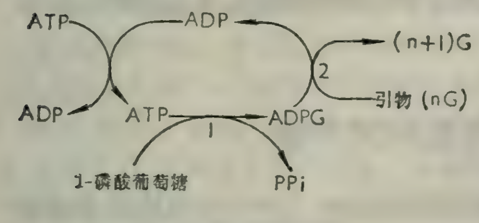
近年来在植物中发现的磷酸化酶不下三四种之多。有的催化淀粉磷解，有的催化合成；有的需要引物，有的不需要引物。许多人认为磷酸化酶主要起淀粉分解的作用，或者提供引物为其他酶所用。细胞中无机磷酸的浓度高时，磷酸化酶当是起分解作用，但在相反的条件下也可能起合成作用。在某些种子成熟过程中淀粉大量合成时，磷酸化酶的活性也增强；玉米“皱皮4”变种，淀粉合成少，磷酸化酶的活性也低。这些事实说明，磷酸化酶在某些情况下也可能参与淀粉的合成作用。



1. UDPG 焦磷酸化酶
2. UDPG 转 G 酶

(2) 尿二磷葡萄糖转葡萄糖苷酶(UDPG 转 G 酶)　见上图。

在玉米、蚕豆、马铃薯中所需引物最小是麦芽糖，即 $n\geqslant2$。UDPG 转 G 酶存在量大，但转换率低。在玉米和水稻的酶制剂中，UDPG 转 G 酶合成淀粉的速率小于 ADPG 转 G 酶合成作用的速率。



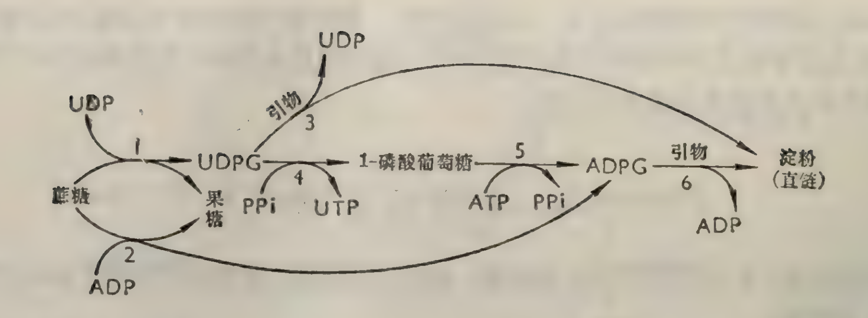
1. ADPG 焦磷酸化酶
2. ADPG 转 G 酶

(3) 腺二磷葡萄糖转葡萄糖苷酶(ADPG 转 G 酶)　见左图。

ADPG 转 G 酶在植物中分布广泛，有可溶的和不可溶的(与淀粉粒结合的)两种形式，有不同的同功酶。在玉米中此酶合成淀粉时不需引物，在水稻中不同的同功酶要求不同长度的引物。

在玉米“皱皮2”变种中，富含蔗糖，淀粉含量只有正常玉米的25%。在种子成熟过程中，前者缺乏 ADPG 转 G 酶活性，而后者中这个酶的活性很高。认为 ADPG 转 G 酶系是合成淀粉的主要途径。但“皱皮2”中仍含有25%淀粉，则 UDPG 转 G 酶和磷酸化酶也起一定的作用。

(4) 由蔗糖合成淀粉　见下图。



2. 支链淀粉的合成

支链淀粉中的 α-D-1→6 糖苷键的分支是由直链底物转化而来的。催化这个转化的酶叫做 Q 酶。其作用方式如下：

(1) Q 酶与直链的非还原端相结合，拆下一个片段：

O–O–O–O–O–O–O–O–O–O–C_1 + Q酶 → O(Q酶)–O–O–O–O–C_1 + O–O–O–O–O–C_1

非还原端　　　　还原端

(2) 将这个片段移置到受体直链的“6”位上，形成“1～6”键：

O(Q酶)–O–O–O–O–C_1 + O–O–O–O(C_6)–O–O–O–O–O–O–C_1 → O–O–O–O(C_6–C_1–O–O–O–O–O)–O–O–O–O–O–O–C_1

到目前为止，淀粉的种类、结构、分解与合成的酶系和途径以及淀粉粒的形成等等，尚未完全搞清楚。所谓直链淀粉，有时也含有少量的 1～6 分支点，因此在合成时，Q 酶也可能稍稍参入。支链淀粉有许多分支，它的合成可能是在直链淀粉合成酶系与 Q 酶的交替作用下产生的。一条直链拆装一次就多出一个非还原端，两种酶交替作用使支链淀粉呈树枝状。在玉米中含有一种淀粉叫做“植物糖元”，具有更多的分支，它可能是在支链淀粉上被另外的酶(不是 Q 酶)再装上侧支而形成的。动物性的糖元分支极多，侧支较短，这样的结构显然对于分解与合成就更加便利了。动物体中的糖元的存在形式和代谢情况，也是很复杂的，肝脏与肌肉中的代谢也不尽相同。

第七节　作物群体的光能利用问题

大田作物是一种群体。群体不能看作是许多个体的简单加合，它具有新的质态，新的规律性。以光能利用来说，单叶的“光饱和点”很低，单株的光饱和点增高，群体的光饱和点更高。水稻生育盛期，甚至测不到光饱和点。就是说，自然条件下的最强的光照，尚未达到其光饱和点，群体对光能的利用提高了。群体上部叶片未吸收而透过的光，可被下部叶片吸收；这部分植株和叶片反射的光，可被别部分植株和叶片吸收；上部叶片达到了光饱和，下部叶片可能尚未达到光饱和，所以群体更需要强光。

群体结构(根系、茎系、叶系)与作物品种、株型、播种密度和方式以及其他栽培条件有关。其中叶面积的发展和分布情况，对光能的利用关系最大。群体叶面积的大小，通常用

“叶面系数”表示：

$$叶面系数(或叶面指数)=\frac{总叶面积}{田地面积}$$

叶面系数是动态的。播种和苗期，叶面系数小，大部分阳光漏射到土壤上，未被植物吸收；以后随着群体的发展，叶面系数逐渐增大；到生育盛期，达到最大；后期又下降。一般产量的稻、麦田块，其叶面系数3～4；高产田块，可达6～7；个别品种达到12。但叶面积过大(对一定品种和生产条件而言)，相互遮阴严重，反而减产。合理密植，在于使群体结构合理，使叶面积动态发展适当。

大田单一群体(只有一种作物的群体)，在早期漏光多；采用复合群体(间作套种)能够提高光能利用率，增加产量。在合宜的条件下，采用三熟制和四熟制，其优点也在此——延长了较大叶面系数的时期，减少了漏光。

作物的株型和叶型，对于合理密植大有关系。稻麦株型瘦直，叶狭、挺直、角度小，上部遮光少，中、下部透光较多，适于大幅度密植。株型松散，叶阔者，如棉株，密植程度就小。从群体利用光能的角度来看，稻麦以矮秆粗壮、分蘖直立、叶小而厚、挺拔竖直、角度小者为好，剑叶尤为重要，这是选育种的方向之一。

光合产物的分配，对产量关系也很大。作物的收获目的部分(如稻之谷，菜之叶，豆之角)叫做经济产量；作物的全体(根、茎、叶、花、果实、种子的全部)叫做生物产量；两者的比例叫做经济系数：

$$经济系数=\frac{经济产量}{生物产量}$$

经济系数表示光合产物分配到经济价值部分的比例。通常，经济系数有一定范围，所以增加生物产量，就相应的增加了经济产量。生产上也往往采用这种方法，如一般稻麦，经济系数0.3左右，若生物产量2000斤，收获谷穗600斤；若生物产量提高到3000斤，则收获谷穗1000斤。高产水稻品种，经济系数可达0.55，如果生物产量也是3000斤，收获谷穗超过1500斤，生物产量的一半以上分配到收获目的部分，成为经济产量。提高经济系数也是选育种的一个方向。

CO_2的供应，对于光能的利用，关系很大。大气中的CO_2浓度平均只有320 ppm，数量小，影响作物产量，用CO_2施肥可以提高产量。而C_4植物能够同化更多的CO_2，提高光能利用效率。从表11-1可见，C_4植物在生存斗争中有许多优点：适应于强光、高温、干旱、高O_2浓度、低CO_2浓度、光合速率高、光呼吸速率低、生长快、干物质累积多。所以，甘蔗、玉米、高粱等C_4植物成为高产作物。C_4植物这些代谢特点的发现，对于农业生产实践，提示了一些增产的设想。其中一个方面，就是如何提高C_3作物的CO_2净同化的问题。

C_3植物的“CO_2补偿点”比C_4植物的要高得多，前者为50～100 ppm，后者为0～10 ppm。所谓CO_2补偿点，就是环境中一定的CO_2浓度，在此浓度下，植物光合同化CO_2的速率，和呼吸释放CO_2的速率，恰好相等，没有碳素的净得或净失。植物要生长发育，环境中的CO_2浓度必须高于其CO_2补偿点。由于大气中CO_2浓度低，C_3植物的CO_2补偿点又较高，不利于CO_2的净同化。如能从C_3作物中选育出CO_2补偿点较低的变异株来，可望培育成高产新品种。

光合机能本身对光能利用的效率，可高达35%，这是在实验室最适条件下得出的，大田

表 11-1　三型植物的结构与功能的比较

特　　征	原初碳素途径		
	C_3 植物	C_4 植物	CAM 植物
叶子横切面	一般无"花圈"	一般有"花圈"	无"花圈",无栅状组织
主要羧化酶	二磷酸核酮糖羧化酶	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 二磷酸核酮糖羧化酶	二磷酸核酮糖羧化酶 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶
CO_2/NADPH/ATP 比	1:2:3	1:2:5	1:2:6.5
CO_2 补偿点 (ppm)	30～70	0～10	～5 夜晚,0～200 白天
蒸腾率(克水/克干重)	450～950	250～350	50～55
最高净光合率 (毫克 CO_2/dm^2 叶面/小时)	15～40	40～80	一般 1～4
光合率与 O_2 浓度 (1% → 21%)	敏　感	不敏感	敏　感
光呼吸 (1) 乙醇酸氧化 (2) 气体交换	 存　在 存　在	 存　在 难测出	 存　在 难测出
CO_2 固定的最适温度	15～25°C	30～37°C	～35°C
最高生产率 (克干重/dm^2 叶面/日)	0.5～2	4～5	0.015～0.018
叶中 $\frac{\text{叶绿素 a}}{\text{叶绿素 b}}$ 比	2.8±0.4	3.9±0.6	2.5～3.0
叶子光合新固定的 ^{14}C 运出叶子的量 (%/6 小时)	<50%	>50%	
生长 (干物质生产) 的最适温度	20～25°C	30～35°C	～35°C
光饱和	$\frac{1}{3}$～$\frac{1}{2}$ 全日光	全日光	大大低于全日光
干物质生产量 (吨/公顷/年)	22.0±3.3	38.6±16.9	

作物当然不可能达到这样高的效率。自然界的植物总体，光能利用率约0.1%。大田作物一般仅能利用单位面积上太阳全年辐射能量的0.1～1%，以生长季计算也不过1～3%。但按生育盛期计算，可达5%，玉米等高产作物甚至可达到10%。所以，总的看来，目前的农业生产水平远未充分发挥光合作用的潜力，增产远未到顶。不是光合作用的本领限制了生产水平，而是生产条件限制了光合本领的发挥。在不断地提高光能利用率的生产发展进程中，产量将持续上升。

第十二章 脂类代谢

脂类物质指生物体内一切可以溶于脂溶性溶剂("脂肪溶剂")并能彼此互溶的物质，包括一些结构和功能不相同的化合物，如脂肪酸、脂肪、磷脂、类固醇(甾类化合物)、脂蛋白、脂肪烃等。

脂肪酸中的亚油酸、亚麻酸等多烯脂肪酸即多非饱和脂肪酸，是人类和某些动物必须从外界取得的营养物质。脂肪在体内主要起储藏能量的作用，脂肪酸(主要是饱和脂肪酸)起供给能量的作用。甘油磷脂是生物膜的主要组分。类固醇包括许多有重要生理功能的物质，如胆固醇、胆酸、甾类激素和维生素D等。血液中的脂蛋白是由胆固醇、甘油三酯(脂肪)、磷脂和蛋白质所组成的复合蛋白。脂肪烃大量存在于石油中，某些天然脂类中也发现混有少量脂肪烃。

了解脂类代谢对农业、工业、医学等方面都有重要的意义。例如种子的发芽率直接和种子的脂类代谢有关；利用微生物氧化石油中脂肪烃可以生产出低凝点油及其他化工产品；脂蛋白异常和威胁人类健康的冠心病有密切关系。

第一节 脂肪代谢

脂肪是脂肪酸的甘油三酯。

1克脂肪彻底氧化可放出9300卡能量，比1克糖或蛋白质放出的能量大一倍以上，因此脂肪是生物体内贮藏能量最大的物质。

每克蛋白质、糖和脂肪所产生的代谢能量为：

1克蛋白质	4100卡
1克糖	4100卡
1克脂肪	9300卡

这样大的能量差异是因为脂肪是非极性的，它以近于无水的形式储藏着，而糖类和蛋白质均具有极性，它们以高度水合形式储藏着。一克干燥的糖元约结合二克水，所以实际上一克脂肪所贮存的能量为一克水合糖元贮存的六倍多。这说明为什么在进化过程中选择脂肪作为主要的能量储备形式。

脂肪也是组成生物体的重要组分。植物种子如芝麻、油菜籽、大豆等都含有大量的油(植物脂肪)，作为发芽时的能源。动物皮下有脂肪层，可防止热量散发。动物的脏器表面也往往附着有脂肪，具有保护脏器使不受机械损伤等作用。

一、脂肪的消化和吸收

人和动物吃了脂肪后，在口腔里不起什么化学变化，在胃里主要是被加温而软化。进入

小肠后，脂肪受到胆汁盐的乳化，分散成细小的微滴悬浮在水中，有利于脂肪和小肠中的胰脂肪酶接触，所以低浓度胆汁盐能增加脂肪酶的活力。高浓度胆汁盐却抑制酶反应，因它阻止脂肪酶与脂肪的界面吸附，而胰脏脂肪酶可以克服这种障碍。人体内的胆汁盐大多以钠盐的形式存在，主要有甘氨胆酸钠和牛磺胆酸钠两种。它们是强乳化剂，结构式如下：

OH　　C(=O)—R

HO　　H　　OH

$R = HNCH_2C(=O)—ONa$　甘氨胆酸钠

$R = HNCH_2CH_2SO_3Na$　牛磺胆酸钠

小肠既能吸收完全水解的脂肪，也能吸收部分水解或未经水解的脂肪微滴。吸收的途径大多由淋巴系统进入血液循环，也有部分直接经门静脉进入肝脏。吸收的形式有三种：

(1) 部分水解　约有一半(50～57%)的脂肪在小肠中部分水解成为脂肪酸和甘油二酯或甘油单酯，它们进入肠粘膜细胞，在滑面内质网再合成甘油三酯，然后在糙面内质网与载脂蛋白、磷脂、胆固醇组成乳糜微粒，再胞泌至细胞外，通过淋巴系统进入血液循环。

(2) 完全水解　约有小半(40%)的脂肪在小肠中完全水解成为脂肪酸和甘油，它们通过门静脉进入肝脏。

(3) 完全不水解　小部分的脂肪(3～12%)以乳胶微滴的形式直接进入肠粘膜细胞，在内质网中装配入乳糜微粒，再由淋巴系统进入血液循环。

α　$CH_2O—C(=O)—R_1$　　CH_2OH

β　$CHO—C(=O)—R_2$　→　$CHO—C(=O)—R_2$ + R_1COOH（脂肪酸）

α　$CH_2O—C(=O)—R_3$　　$CH_2O—C(=O)—R_3$

甘油三酯　　甘油二酯

↓

CH_2OH

$CHO—C(=O)—R_2$ + R_3COOH（脂肪酸）

CH_2OH

甘油单酯

↓

CH_2OH

$CHOH$ + R_2COOH

CH_2OH

甘 油　　脂肪酸

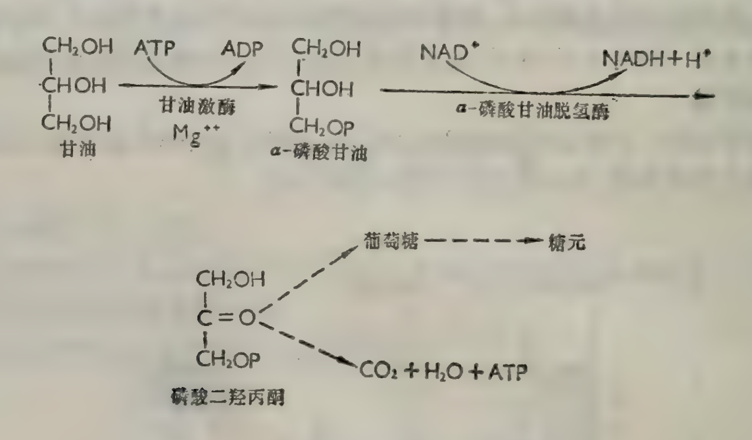
储存在脂肪库(如肠系膜和皮下结缔组织)的脂肪也经常更新。如在较长时间的饥饿时,脂肪就分解成脂肪酸和甘油,游离脂肪酸与血清清蛋白结合,通过血流转移到肝、肌等组织进行氧化放出能量,这个过程称为脂肪动用。

脂肪受到脂肪酶的催化,水解为甘油和脂肪酸。α位上的脂肪酸先被分解出来,然后再分解出β位上的脂肪酸。

植物也有类似的脂肪消化作用。如油料作物的种子发芽时,脂肪酶活力增加,促使脂肪分解。凡能利用脂肪的微生物也都有脂肪酶。生产春雷霉素的培养基中需含有一定配比的植物油,说明春雷霉菌能够产生脂肪酶,所以能利用植物油。假丝酵母、圆酵母等都能产生较多的脂肪酶,工业上已经利用它们作为制造脂肪酶制剂的原料。

二、甘油代谢

甘油先与 ATP 作用,生成磷酸甘油,然后再脱氢生成磷酸二羟丙酮。后者可通过酵解途径进入三羧酸循环而彻底氧化,产生大量的能,也可以循着酵解的逆反应而合成糖元。因此,甘油代谢与糖代谢的关系极为密切,糖和甘油可以相互转变:



三、脂肪酸的分解

1. β-氧化作用

脂肪酸的β-氧化过程是在肝脏中逐步进行的,每次从羧基端开始断下一个二碳物(C_2)。由于这个氧化作用是在长链脂肪酸的β位碳原子上首先氧化,然后断下C_2,因此称为β-氧化作用。

β-氧化作用最初是根据动物实验提出来的一个学说。通过制备一系列的ω-苯(基)脂(肪)酸,即脂肪酸的甲基($-CH_3$)上的一个氢原子被苯基取代而成的苯脂酸,再将它们饲喂动物。在动物体内,苯基不被破坏,而是通过解毒机制,形成无毒性的衍生物,从尿中排出。鉴定尿中含苯基的化合物,可以推测脂肪酸在体内分解的途径,当时还没有同位素示踪技术,用ω-苯脂酸来研究脂肪酸代谢可以算是应用示踪技术的雏形。

将带有苯基的双数和单数碳的脂肪酸喂给狗吃,从尿中分离到两种含苯基的化合物。一种是由苯甲酸和甘氨酸缩合而成的马尿酸,另一种是由苯乙酸和甘氨酸缩合而成的苯乙尿

酸。凡是吃了双数碳苯脂酸的狗，尿中的苯基化合物为苯乙尿酸；凡是吃了单数碳苯脂酸的狗，尿中的苯基化合物为马尿酸。

单数：

$$\underset{\text{苯丙酸}}{C_6H_5-\overset{\beta}{C}H_2\overset{\alpha}{C}H_2COOH} \longrightarrow \underset{\text{苯甲酸}}{C_6H_5-COOH} + C_2\text{化合物}$$

$$\xrightarrow[\text{甘氨酸}]{NH_2CH_2COOH} \underset{\text{马尿酸(苯甲尿酸)}}{C_6H_5-CONHCH_2COOH}$$

双数：

$$\underset{\text{苯丁酸}}{C_6H_5-CH_2\overset{\beta}{C}H_2\overset{\alpha}{C}H_2COOH} \longrightarrow \underset{\text{苯乙酸}}{C_6H_5-CH_2COOH} + C_2\text{化合物}$$

$$\xrightarrow[\text{甘氨酸}]{NH_2CH_2COOH} \underset{\text{苯乙尿酸}}{C_6H_5-CH_2CONHCH_2COOH}$$

由于每次断下一个碳或断下三个碳都不符合实验结果，克诺甫 (Knoop) 认为脂肪酸在体内氧化时每次都断下一个二碳物 (C_2)。他在 1904 年提出了 β-氧化学说，至今这个结论仍旧是正确的。现在对脂肪酸 β-氧化作用的细节已经更加深入了解。

β-氧化作用并不是一步完成的，而是包含下列几个步骤：

(1) 脂肪酸通过脂酰辅酶 A 合成酶催化，生成脂酰辅酶 A，因 PPi 迅速水解而使此反应不可逆转：

$$RCH_2CH_2COOH + ATP + HSCoA \rightleftharpoons RCH_2CH_2COSCoA + AMP + PPi$$

(2) 脂酰辅酶 A 通过脂酰辅酶 A 脱氢酶的催化，生成反-Δ^2-烯脂酰辅酶 A。此酶含有辅基 FAD：

$$\mathrm{FAD + RCH_2CH_2COSCoA \rightleftharpoons \underset{\displaystyle H}{\overset{\displaystyle H}{RC{=}C}}COSCoA + FAD \cdot 2H}$$

此反应的逆反应由另一个需要 NADPH 的烯酰还原酶所催化。

(3) 反-Δ^2-烯脂酰辅酶 A 通过烯(脂)酰辅酶 A 水合酶的催化，生成 L-β-羟脂酰 CoA：

$$\mathrm{\underset{\displaystyle H}{\overset{\displaystyle H}{RC{=}C}}COSCoA + H_2O \rightleftharpoons \underset{\displaystyle H\quad H}{\overset{\displaystyle OH\quad H}{RC{-}C}}{-}COSCoA}$$

(4) L-β-羟脂酰辅酶 A 通过 β-羟脂酰辅酶 A 脱氢酶的催化，生成 β-酮脂酰辅酶 A。此反应需要 NAD^+：

$$\mathrm{NAD^+ + R\underset{\displaystyle H}{\overset{\displaystyle OH}{C}}CH_2COSCoA \rightleftharpoons R\underset{\displaystyle \| \atop \displaystyle O}{C}CH_2COSCoA + NADH + H^+}$$

(5) β-酮脂酰辅酶 A 通过 β-酮硫解酶的催化，硫解为乙酰辅酶 A 和比原来少了二个碳的脂酰辅酶 A：

$$\mathrm{R\overset{\beta}{\underset{\displaystyle \| \atop \displaystyle O}{C}}\,\vdots\,\overset{\alpha}{C}H_2COSCoA + HSCoA \rightleftharpoons CH_3COSCoA + RCOSCoA}$$

脂酰辅酶 A 又循着上述的途径继续分解出乙酰辅酶 A。虽然上述多数反应均为可逆反应，但平衡状况大大有利于分解方向。

脂肪酸的 β-氧化作用可用循环图(图 12-1)来表示。

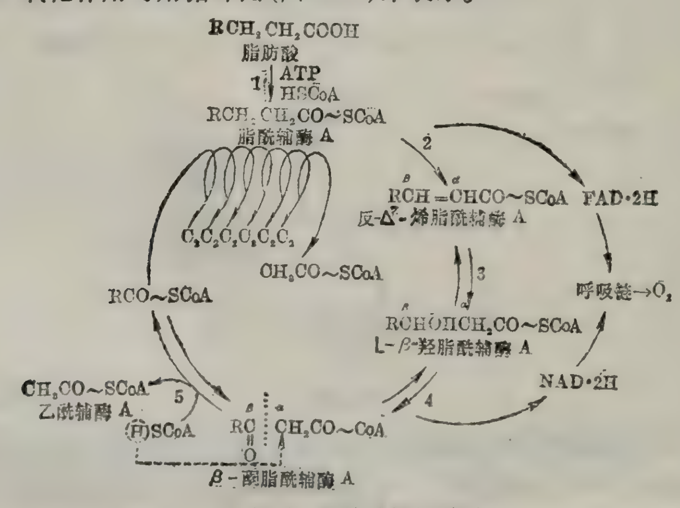
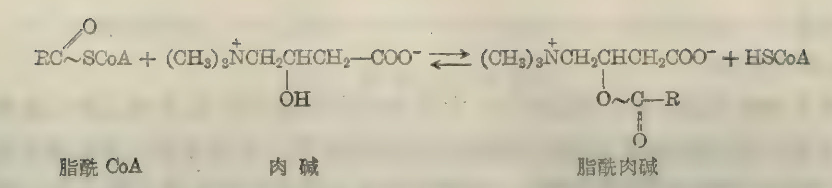


图 12-1 脂肪酸氧化循环

1. 脂酰辅酶 A 合成酶 2. 脂酰辅酶 A 脱氢酶 3. 烯酰辅酶 A 水合酶 4. β-羟脂酰辅酶 A 脱氢酶 5. β-酮硫解酶

脂肪酸的 β-氧化作用主要在线粒体基质内进行。肉碱能促进 β-氧化作用，因为在线粒体外膜上由反应 1 所生成的脂酰 CoA 不能透过线粒体内膜，它必须与肉碱反应生成脂酰肉碱然后才能进入线粒体基质。这时，脂酰肉碱再与辅酶 A 反应生成脂酰 CoA，随后就可进行 β-氧化的 2、3、4、5 各步反应。软脂酰 CoA-肉碱转软脂酰酶催化长链脂酰 CoA 与肉碱反应生成脂酰肉碱，此反应是可逆的：



不饱和脂肪酸亦可通过 β-氧化作用而进行氧化，但在氧化过程中可能出现顺-Δ^3-烯脂酰 CoA 或 D-β-羟烯脂酰 CoA 这两种化合物。由于它们顺次地不是烯酰 CoA 水合酶和 β-羟脂酰 CoA 脱氢酶的正常底物，所以必须通过相应的异构酶的催化作用使它们转变成为反-Δ^2-烯脂酰 CoA 和 L-β-羟烯脂酰 CoA，反应才能继续进行。

β-氧化过程中所形成的 FAD·2H 可通过呼吸链产生 2 分子 ATP，而还原辅酶 I 也可通过呼吸链产生 3 分子 ATP。从图中可看到，1 分子脂肪酸进入 β-氧化循环，通过 5 步反应产生 1 分子乙酰 CoA、1 分子比原来少了 2 个碳的脂酰 CoA 和 5 分子 ATP。由于在反应 1 中用掉 2 个 ATP，所以净得 3 分子 ATP。以后，脂酰 CoA 可通过反应 2、3、4、5 再继续循环下去。每循环一次可产生 5 个 ATP。脂肪酸除了通过 β-氧化循环产生大量 ATP 外，每分子乙酰 CoA 还可通过三羧酸循环产生 12 分子 ATP。

以硬脂酸（十八酸）为例：

共经 8 次 β-氧化循环，产生 $8\times5-2=\ 38$ 分子 ATP

共产生 9 分子乙酰 CoA，产生 $9\times12=108$ 分子 ATP

146 分子 ATP

因此，脂肪具有供给生物体大量能量的作用。

偶数碳链（C_{2n}）脂肪酸经过 β-氧化作用共产生 n 个乙酰 CoA，乙酰 CoA 进入三羧酸循环彻底氧化。奇数碳链（C_{2n+1}）脂肪酸经过 β-氧化作用可产生 $n-1$ 个乙酰 CoA 和一个丙酰 CoA。丙酰 CoA 可和 ATP、CO_2 反应生成甲基丙二酸单酰 CoA，此反应被以生物素为辅基的丙酰 CoA 羧化酶所催化。甲基丙二酸单酰 CoA 通过甲基丙二酸单酰 CoA 变位酶催化，分子内部重排而转变成为琥珀酰 CoA，此反应需要维生素 B_{12}。琥珀酰 CoA 可进入三羧酸循环而彻底氧化。

$$CH_3CH_2CO{\sim}SCoA + ATP + CO_2 \xrightarrow[\text{羧 化 酶}]{\text{丙酰辅酶 A}} CH_3\underset{\displaystyle\ }{\overset{COOH}{\overset{|}{C}}}HCO{\sim}SCoA + ADP + Pi$$

甲基丙二酸单酰 CoA

$\updownarrow$ 甲基丙二酸单酰 CoA 变位酶

$$HOOCCH_2CH_2CO{\sim}SCoA$$

琥珀酰 CoA

生物除了可以通过 β-氧化作用分解脂肪酸外，还发现有 ω-氧化作用，即脂肪酸 ω 位的碳首先氧化，生成二羧酸，然后再通过 β-氧化作用脱下 C_2 物来。

$$CH_3(CH_2)_nCOOH \longrightarrow HOOC(CH_2)_nCOOH \cdots\!\!\longrightarrow CH_3COOH + HOOC(CH_2)_{n-2}COOH$$

此外，脂肪酸也能进行 α-氧化作用。脂肪酸先氧化生成 α-羟酸，然后变为 α-酮酸，最后脱去 CO_2。

碳数为 n 的脂肪酸→α-羟酸→α-酮酸→碳数为 $n-1$ 的脂肪酸 + CO_2

2. C_2 物的去路

脂肪酸氧化时释放出的乙酰辅酶 A，大部分在肝内重行缩合，生成乙酰乙酰辅酶 A，后者经水解作用生成乙酰乙酸。乙酰乙酸和乙酰辅酶 A 进入血液循环，再分布至各组织，主要为肌肉，通过三羧酸循环彻底氧化。脂肪酸氧化的中间产物乙酰乙酰 CoA，在肝中可水解产生乙酰乙酸，再经还原作用形成 β-羟丁酸，或经脱羧作用形成丙酮(式 1 所示)。乙酰乙酰 CoA 在肝中还可以转变成为 β-羟-β-甲基戊二酸单酰 CoA(式 2 所示)，后者是生物合成胆固醇的重要中间物，也是亮氨酸降解中的重要中间物，还可裂解产生乙酰乙酸。

(1)

$$CH_3COSCoA + CH_3COSCoA \rightleftharpoons CH_3COCH_2COSCoA + HSCoA$$

$$\underset{\text{乙酰乙酰CoA}}{CH_3COCH_2COSCoA} \xrightarrow{H_2O} \underset{\text{乙酰乙酸}}{CH_3COCH_2COOH} + HSCoA$$

乙酰乙酸 $\xrightarrow{NAD\cdot 2H}$ $CH_3CH(OH)CH_2COOH$（β-羟丁酸）

乙酰乙酸 $\xrightarrow{-CO_2}$ $CH_3C(=O)CH_3$（丙酮）

(2)

$$CH_3COCH_2COSCoA + (CH_3CO)SCoA + H_2O$$

$$\longrightarrow HOOC-CH_2-\underset{CH_3}{\overset{OH}{C}}-CH_2-\underset{O}{\overset{}{C}}-SCoA + HSCoA$$

β-羟-β-甲基戊二酸单酰CoA

医学上将乙酰乙酸、β-羟丁酸和丙酮三者统称为酮体，酮体为肝内脂肪酸代谢的正常中间产物。酮体中的 β-羟丁酸，可以脱氢重新生成乙酰乙酸，乙酰乙酸在肝外各组织中(主要为肌肉)转变成乙酰乙酰 CoA，再硫解为乙酰辅酶 A，然后进入三羧酸循环，彻底分解。

$$CH_3COCH_2COOH + ATP + CoASH \rightleftharpoons CH_3COCH_2COSCoA + AMP + PPi$$

$$CH_3COCH_2COSCoA + CoASH \rightleftharpoons 2\,CH_3COSCoA$$

在正常人或动物体内，糖代谢居主导地位。当肝中糖代谢不足时(如糖尿病)，脂肪成为主要的代谢成分，因此在糖尿病患者体内酮体累积往往较正常人为多。许多糖尿病患者缺乏胰岛素受体或缺乏胰岛素，而胰岛素的生理功能主要是促进血糖的利用，因此患者对葡萄糖的利用率较正常人为低，于是体内丙酮酸(C_3 物)的浓度比正常人低，而从 C_3 物羧化生成草酰乙酸(C_4 物)的机会也少了(图 10-2)。从脂肪酸分解出来的 C_2 没有足够的 C_4 物，就不能充分结合进入三羧酸循环，多余的 C_2 物便去形成酮体或胆固醇。

四、脂肪酸的合成

一般，生物都能利用糖类或者更简单的含碳物作为碳源来合成脂肪酸。例如，油料作物以 CO_2 作碳源，微生物以糖或乙酸作碳源，动物也能以糖类作碳源。但动物并不能“从无到有”地合成那些在甲基端 7 个碳原子的片段上具有 1 个或 1 个以上双键的多烯脂肪酸，如亚油酸和亚麻酸。因此，对于动物来说，人们称它们为必需脂肪酸。过去，一直认为脂肪酸的合成是循着脂肪酸的 β-氧化作用的逆反应进行的。现在已经确定，在非线粒体系统和微粒体系统中，脂肪酸的合成在性质上是不同于 β-氧化作用的。

脂肪酸的合成主要有两种方式：一种是通过全程合成的途径合成(也可以称为“从无到有”途径)，另一种则是在已有的脂肪酸链上加上 C_2 物，使碳链延长。前者的酶系存在于细胞溶质中，称为非线粒体系统；后者的酶系存在于线粒体和微粒体中，称为线粒体系统和微粒体系统。

1．非线粒体系统

是脂肪酸合成的主要途径。通过此途径可将乙酰 CoA 转变成长链脂肪酸，反应需要 ACP(酰基载蛋白)、ATP、CO_2、Mn^{++} 和 NADPH，合成的主要产物为软脂酸(十六酸)。所需要的酶系存在于细胞溶质中。

(1) *形成丙二酸单酰 ACP* 在合成长链脂肪酸时，必须先形成丙二酸单酰 CoA。这一反应是由以生物素为辅基的乙酰 CoA 羧化酶催化，再通过酶 3 形成丙二酸单酰 ACP。

$$\underset{\text{乙酰 CoA}}{CH_3CO\sim SCoA} + CO_2 + ATP \xrightarrow{Mn^{++}} \underset{\text{丙二酸单酰 CoA}}{HOOCCH_2CO\sim SCoA} + ADP + Pi$$

CO_2 参与软脂酸的合成，但用 $^{14}CO_2$ 示踪时，证明它并不参入到新合成的软脂酸分子中去。

(2) *从丙二酸单酰 ACP 合成软脂酸* 通过脂肪酸合成酶的催化，乙酰 ACP 与丙二酸单酰 ACP、还原辅酶 II 作用，生成软脂酰 ACP，再经软脂酰脱酰酶的作用而释出软脂酸。总反应如下：

$$\underset{\text{乙酰 ACP}}{CH_3CO\sim SACP} + 7\,\underset{\text{丙二酸单酰 ACP}}{HOOCCH_2CO\sim SACP} + 14\,NADPH + 14\,H^+ \longrightarrow$$

$$\underset{\text{软脂酸}}{CH_3(CH_2)_{14}COOH} + 7\,CO_2 + 8\,HSACP + 14\,NADP^+ + 6\,H_2O$$

脂肪酸全程合成(图 12-2)的中间产物都是 ACP 的衍生物。ACP 是一种携带脂酰基的蛋白质，也称脂酰载体蛋白，分子量很小，约为 10000 左右。不同来源的 ACP，尽管其氨基酸组成有所不同，但都含有一个 4′-磷酸泛酰巯基乙胺的辅基：

$$\underbrace{HO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(OH)}_{\text{磷酸残基}}\vdots\underbrace{-O-\underset{4'}{CH_2}-\underset{3'}{C}(CH_3)_2-\underset{2'}{CH}(OH)-\underset{1'}{\overset{O}{\overset{\|}{C}}}-NH-CH_2-CH_2-\overset{O}{\overset{\|}{C}}}_{\text{泛酸残基}}\vdots\underbrace{-NH-CH_2-CH_2SH}_{\text{巯基乙胺残基}}$$

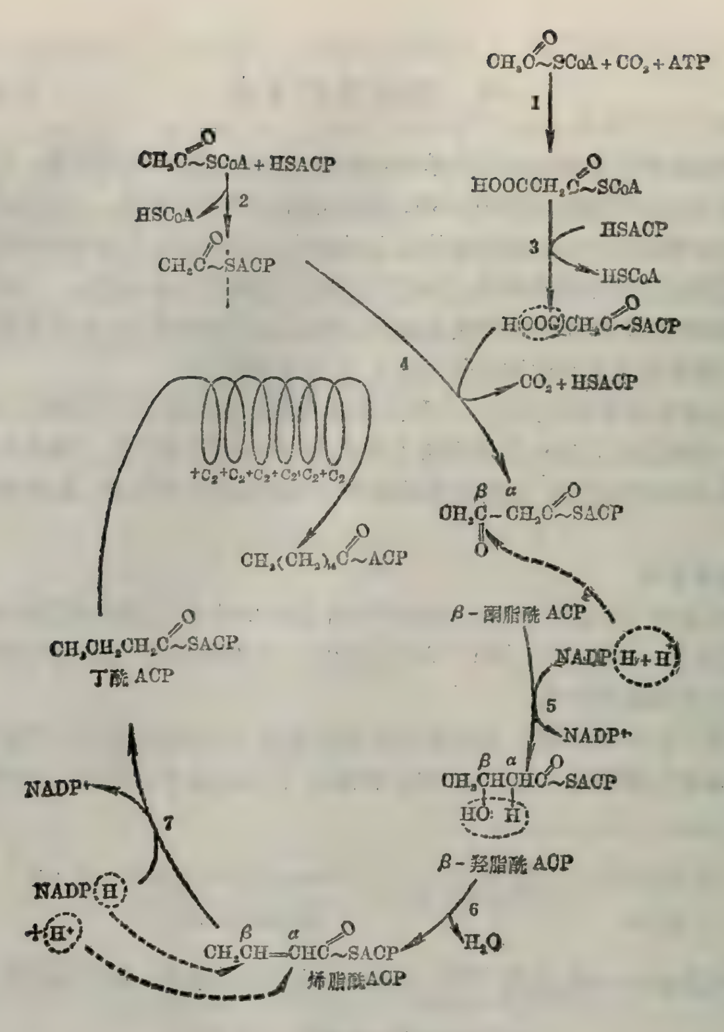


图 12-2 脂肪酸的全程合成过程

1. 乙酰 CoA 羧化酶 2. 乙酰 CoA-ACP 转酰酶 3. 丙二酸单酰-ACP 转酰酶 4. β-酮脂酰 ACP 合成酶(或称脂酰-丙二酸单酰 ACP 缩合酶) 5. β-酮脂酰 ACP 还原酶 6. β-羟脂酰 ACP 脱水酶 7. 烯脂酰 ACP 还原酶

ACP 与 HSCoA 的功能部位都含有巯基，因此也可将 ACP 写成 HSACP。脂肪酸 β-氧化作用的中间产物都是 HSCoA 的衍生物，在脂肪酸合成中则都是 HSACP 的衍生物。脂酰基与 HSACP 相连接时也是通过巯基的。

参与脂肪酸全程合成的 6 种酶(酶 2～7)，它们以 ACP 为核心而结合在一起，形成脂肪酸合成酶的多酶复合物。4′-磷酸泛酰巯基乙胺结合在 ACP 的丝氨酸残基上，可能是此多酶复合物中的关键性物质。推测它可使与它共价结合的各种脂酰中间物接近各相应酶的活性部位，从而使反应顺利进行。

酶 1 是乙酰 CoA 羧化酶，它可使乙酰 CoA 羧化生成丙二酸单酰 CoA。酶 2 是乙酰 CoA-ACP 转酰酶，它可将乙酰基从辅酶 A 上转到 HSACP 上生成乙酰 ACP。酶 3 是丙二酸单酰 CoA-ACP 转酰酶，可使丙二酸单酰基从 CoA 上转到 HSACP 上，生成丙二酸单酰 ACP。酶 4 是脂酰-丙二酸单酰 ACP 缩合酶，不但可使乙酰 ACP 与丙二酸单酰 ACP

缩合，也可使乙酰 ACP 的同系物(丁酰 ACP、己酰 ACP 等)与丙二酸单酰 ACP 缩合，生成相应的 β-酮脂酰 ACP，同时放出 CO_2 和 HSACP。酶 5 是 β-酮脂酰 ACP 还原酶，在还原辅酶 II 参与下可使 β-酮脂酰 ACP 还原为 β-羟脂酰 ACP，后者在 β-羟脂酰 ACP 脱水酶(酶 6)的催化下脱水生成烯脂酰 ACP。酶 7 是烯脂酰 ACP 还原酶，在还原辅酶 II 参与下可使烯脂酰 ACP 还原，生成丁酰 ACP。丁酰 ACP 又和丙二酸单酰 ACP 缩合，重复进行酶 4、5、6、7 所催化的一系列反应，又可合成增加 2 个碳的脂酰 ACP。这个循环可以一次又一次地继续下去，每次循环增加 2 个碳。脂肪酸全程合成循环中的反应 5、6、7 与 β-氧化中的相似，但也有差异，全程合成需要 NADPH，且反应 5 的产物为 D-β-羟脂酰 ACP。

脂肪酸的全程合成在胞液中进行。线粒体内的乙酰 CoA 必须与草酰乙酸缩合生成柠檬酸，然后才能透过线粒体膜进入胞液。柠檬酸在胞液中裂解，生成乙酰 CoA 后就可参与合成反应。乙酰 CoA 还可以通过与肉碱反应形成脂酰肉碱等其他的方式进入细胞质。

合成脂肪酸需要一个短的脂酰 CoA 作为引物，主要是乙酰 CoA，而丙酰 CoA 和异丁酰 CoA 等也可以作为引物。由于引物形成脂肪酸甲基端的碳，因此当乙酰 CoA 作为引物时，生成偶数碳链脂肪酸。当丙酰 CoA 作为引物时则生成奇数碳链脂肪酸。当引物为异丁酰 CoA 时，则生成支链的脂肪酸。

非线粒体系统中进行的是脂肪酸“从无到有”的合成过程，也称全程合成，以 C_2 为原料合成高级脂肪酸。通过这个过程合成饱和的脂肪酸，主要产物为软脂酸。

2. 线粒体系统

线粒体内的有关酶所催化的反应只能在 C_{12}、C_{14}、C_{16} 脂肪酸(饱和的或不饱和的)基础上逐步加上 C_2 物，形成 C_{18}、C_{20}、C_{22} 和 C_{24} 等脂肪酸。反应中需要乙酰 CoA、还原 CoI 和还原 CoII，因此认为反应主要是 β-氧化作用的逆过程，只是个别的反应由不同的酶所催化。参与 β-氧化作用的硫解酶、β-羟脂酰 CoA 脱氢酶和烯脂酰 CoA 水合酶这三个酶也参与合成过程。β-氧化作用中的脂酰 CoA 脱氢酶不能催化逆反应，合成过程中由烯(脂)酰还原酶催化逆反应即反应(4)，所需要的辅因子是还原辅酶 II 而不是 FAD·2H。

(1) $CH_3CO{\sim}SCoA + RCH_2CO{\sim}SCoA \xrightleftharpoons{\text{硫解酶}} RCH_2COCH_2CO{\sim}SCoA + HSCoA$

(2) $RCH_2COCH_2CO{\sim}SCoA + NADH + H^+ \xrightleftharpoons{\beta\text{-羟脂酰脱氢酶}} RCH_2CHOHCH_2CO{\sim}SCoA + NAD^+$

(3) $RCH_2CHOHCH_2CO{\sim}SCoA \xrightleftharpoons{\text{烯(脂)酰 CoA 水合酶}} RCH_2CH{=}CHCO{\sim}SCoA + H_2O$

(4) $RCH_2CH{=}CHCO{\sim}SCoA + NADPH + H^+ \xrightarrow{\text{烯(脂)酰还原酶}} RCH_2CH_2CH_2CO{\sim}SCoA + NADP^+$

3. 微粒体系统

微粒体系统可使多烯脂肪酸的碳链延长，需要 NADPH 和丙二酸单酰 CoA。后者在延长碳链中的作用方式可能与在非线粒体系统中的情况相似，即放出 CO_2 并在多烯脂肪酸的非甲基端上加上 C_2 物。其中包含哪些确切的反应和哪些酶还不十分清楚。

多烯脂肪酸是具有一个以上双键的不饱和脂肪酸。细菌一般没有多烯脂肪酸，但在高等动物和植物中却普遍存在。哺乳动物含有四类多烯脂肪酸，这些脂肪酸的区别是末端甲基与离其最近的双键相隔的碳原子数不同。动物不能合成亚油酸类和亚麻酸类，因缺乏那些可催化在脂肪酸 ω1 至 ω7 位碳之间形成双键的酶。

(1) 软脂油酸类(ω7 族):

$$CH_3-(CH_2)_5-CH=CH-$$

(2) 油酸类(ω9 族):

$$CH_3-(CH_2)_7-CH=CH-$$

(3) 亚油酸类(ω6 族):

$$CH_3-(CH_2)_4-CH=CH-$$

(4) 亚麻酸类(ω3 族):

$$CH_3-CH_2-CH=CH-$$

哺乳动物体内所有的多烯脂肪酸都是由这四种衍生出来的，通过再延长碳链或是再去饱和而衍生。但是哺乳动物不能合成 ω6 族和 ω3 族，而必需由食物提供，因此这两类脂肪酸属于必需脂肪酸。

必需脂肪酸广泛存在于食物中，如玉米、花生、芝麻、向日葵籽、棉籽油中均含量丰富。必需脂肪酸具有促进生长、降低血脂等功能。它们是膜磷脂的主要组分，有些还是前列腺素的前体如花生四烯酸等。从一些动物实验，如猴缺乏维生素 B_6 可导致高血脂和动脉粥样硬化，而兔缺乏必需脂肪酸也可导致动脉粥样硬化，鼠因缺乏维生素 B_6 所引起的症状可用多烯脂肪酸来纠正等等现象看来，必需脂肪酸的代谢和维生素 B_6 可能存在一定的关系。对此还需作深入的研究。

在微粒体部分还存在一种特殊的氧化酶，称为双功能加氧酶 (mixed function oxygenase)，可使脂肪酸脱氢形成双键。催化的反应是将分子氧中的一个原子作为脂酰 CoA 中二个氢原子的直接受体，另一个氧原子则接受来自还原辅酶 II 的两个氢，共形成二分子水和一分子相应的不饱和脂肪酸。例如:

$$\underset{\text{软脂酰 CoA}}{CH_3(CH_2)_{14}\overset{O}{\overset{\|}{C}}\sim SCoA} + NADPH + H^+ + O_2 \longrightarrow$$

$$\underset{\text{软脂油酰 CoA }(\Delta^9\text{-十六烯酸})}{CH_3(CH_2)_5CH=CH(CH_2)_7\overset{O}{\overset{\|}{C}}\sim SCoA} + NADP^+ + 2H_2O$$

各种生物合成不饱和脂肪酸的能力不尽相同。例如: 在哺乳动物中硬脂酸(十八酸)可脱氢生成油酸 (Δ^9-十八烯酸)，但后者不能再脱氢生成亚油酸 ($\Delta^{9,12}$-十八二烯酸) 或亚麻酸 ($\Delta^{9,12,15}$-十八三烯酸); 在高等植物中，油酸可再脱氢生成亚油酸和亚麻酸; 在大肠杆菌中软脂油酸(Δ^9-十六烯酸)的合成是先由 β-羟癸酰-ACP 生成 β, γ-烯脂酰-ACP，然后再在 C_{10} 链上从酰基端逐步加上 C_2 物直至 C_{16}。

五、脂肪的生物合成

脂肪酸与甘油可以合成脂肪。首先，在磷酸甘油转脂酰酶的催化下，α-磷酸甘油和二分子脂酰辅酶 A 缩合，形成 L-α-磷脂酸。L-α-磷脂酸再在磷脂酸磷酸(酯)酶作用下水解，去掉磷酸，生成 1, 2-二脂酰甘油。最后，二脂酰甘油与另一分子脂酰辅酶 A 在甘油二酯转脂酰酶作用下缩合生成三脂酰甘油，也称脂肪。

$$2\,RCO\sim SCoA + \alpha\text{-磷酸甘油}\ (H_2COH{-}HOCH{-}H_2COPO_3H_2) \longrightarrow \text{L-}\alpha\text{-磷脂酸}\ (H_2CO{-}COR,\ RCO{-}OCH,\ H_2COPO_3H_2) + 2\,HSCoA$$

脂酰辅酶 A　α-磷酸甘油　L-α-磷脂酸

$$\text{L-}\alpha\text{-磷脂酸} \xrightarrow{H_2O} \text{二脂酰甘油}\ (H_2CO{-}COR,\ RCO{-}OCH,\ H_2COH) + Pi$$

$$\text{二脂酰甘油} + RCO\sim SCoA \longrightarrow \text{三脂酰甘油}\ (H_2CO{-}COR,\ RCO{-}OCH,\ H_2C{-}O{-}COR)$$

三脂酰甘油　二脂酰甘油

第二节 磷脂代谢

磷脂是由磷酸甘油的衍生物和(神经)鞘氨醇的衍生物所组成的一类脂类，磷酸甘油的衍生物称为甘油磷脂，而鞘氨醇的衍生物则称为鞘磷脂。大多数磷脂是甘油磷脂，它们多数还含有一个含氮碱基，如卵磷脂是由甘油、脂肪酸、磷酸和胆碱组成，称为磷脂酰胆碱。鞘磷脂是由鞘氨醇、脂肪酸、磷酸和胆碱所组成。由于磷脂既有极性基团又有非极性基团，所以它具有乳化作用，有助于甘油三酯和胆固醇的消化和吸收。在淋巴液中，甘油磷脂在脂蛋白中起了使非极性的胆固醇、甘油三酯和极性的蛋白质结合起来的作用。某些甘油磷脂还具有促进凝血的作用。磷脂广泛存在于生物体内，这是因为它是生物膜的主要组分。一般在生物膜的双脂层结构中，大部分的磷脂是甘油磷脂，也有一些鞘磷脂、胆固醇和糖脂。含甘油磷脂丰富的部位有肝、血浆、神经髓鞘、蛋黄、豆科植物种子、线粒体、红细胞膜、内质网等。含鞘磷脂丰富的部位有红细胞膜、神经髓鞘。几种生物膜脂类的化学成分(%)比较如下表:

脂类	髓鞘	红细胞膜	线粒体	微粒体
胆固醇	25	25	5	6
磷脂酰乙醇胺	14	20	28	17
磷脂酰胆碱	11	23	48	64
磷脂酰丝氨酸	7	11	0	0
磷脂酰肌醇	0	2	8	11
双磷脂酰甘油(心磷脂)	0	0	11	0
鞘磷脂	6	18	0	0
脑苷脂	25	0	0	0
其他	11	1	0	0

一、磷脂的消化和吸收

磷脂消化吸收的最大特点是能够在肠腔中广泛水解。小肠中存在多种水解磷脂的酶，大部分磷脂在小肠中可完全水解成为脂肪酸、甘油、磷酸等，小部分磷脂可不经过水解而包含在乳胶微滴内被完整地吸收。

二、磷脂的分解

参与磷脂分解代谢的酶有磷脂酶 A、磷脂酶 B、磷脂酶 C 和磷脂酶 D 等。它们在自然界分布很广，存在于动物、植物、细菌、真菌中。磷脂酶 A 又有两种，一种分解键 1，称为磷脂酶 A_1；另一种分解键 2，称为磷脂酶 A_2。

```
              α' H2CO —1— OCR1
                   |
R2CO —2— OCH β
                   |            O
                   |            ‖
              α H2CO —3— P —4— OR3
                                |
                                O⁻
```

磷脂酶 A_1 作用于卵磷脂，生成 2-脂酰甘油磷酸胆碱(简写 2-脂酰 GPC)。磷脂酶 A_2 作用于卵磷脂，生成 1-脂酰甘油磷酸胆碱(简写 1-脂酰 GPC)。这两种产物都具溶血作用，因此都称为溶血卵磷脂。蛇毒和蜂毒中磷脂酶 A_2 的含量特别丰富，所以被毒蛇或蜂咬螫后会引起溶血作用，不过被毒蛇咬后致命则并不是由于溶血，而主要是由于蛇毒中含有多种使神经麻痹的蛇毒蛋白。

磷脂酶 B 也称溶血磷脂酶，它可催化磷脂酶 A_2 的产物 1-脂酰 GPC 上键 1 的水解。至于磷脂酶 A_1 的产物 2-脂酰 GPC 上键 2 的水解，则由磷脂酶 A_2 所催化，产物都是 L-α-甘油磷酸胆碱(L-α-GPC)和脂肪酸。L-α-GPC 先通过 GPC-二酯酶的作用水解键 4，再通过磷酸单酯酶的作用水解键 3，最后产物为胆碱、甘油和磷酸，见图 12-3。

此外，在细菌中磷脂酶 C 催化键 3 的水解；在植物中磷脂酶 D 催化键 4 的水解。

在不同的生物体内，卵磷脂的分解代谢可有三条不同的途径(图 12-4)：

(1) 在动物肠腔中，卵磷脂通过磷脂酶 A_1 或 A_2 的作用，转变成为 2-脂酰-甘油磷酸胆碱(2-脂酰-GPC)或 1-脂酰-甘油磷酸胆碱(1-脂酰-GPC)。2-脂酰-GPC 被磷脂酶 A_2 催化生成甘油磷酸胆碱(GPC)，而 1-脂酰-GPC 被磷脂酶 B 催化生成 GPC。GPC 被 GPC-二酯酶和磷酸单酯酶作用，水解生成胆碱、甘油和磷酸。在组织中，降解不一定进行到底。

(2) 在细菌中，卵磷脂被磷脂酶 C 作用，生成 1，2-甘油二酯和磷酸胆碱。磷酸胆碱再被磷酸单酯酶作用，生成胆碱和磷酸。

(3) 在植物中，卵磷脂被磷脂酶 D 作用，生成胆碱和磷脂酸 (1，2-二脂酰甘油-3-磷酸)，磷脂酸再被磷脂酸磷酸酯酶作用，生成 1，2-甘油二酯和磷酸。

$H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{C}}R_1$
$R_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OCH$
$H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^-)-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$

磷脂酶 A_2　H_2O　$R_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH$

磷脂酶 A_1　H_2O　$R_1\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH$

$H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{C}}R$
$HOCH$
$H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^-)-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$

1-脂酰GPC

H_2COH
$R_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OCH$
$H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^-)-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$

2-脂酰GPC

磷脂酶 B　H_2O　$R_1\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH$

磷脂酶 A_2　H_2O　$R_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OH$

$HOCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$

胆碱

GPC—二酯酶　H_2O

H_2COH
$HOCH$
$H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^-)-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3$

L-α-GPC

H_2COH
$HOCH$
$H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(OH)-OH$

L-α-GP

磷酸单酯酶　H_2O

H_2COH
$HOCH$
H_2COH　$+P_i$

甘油

图 12-3　动物中 L-α-卵磷脂(磷脂酰胆碱)的分解途径

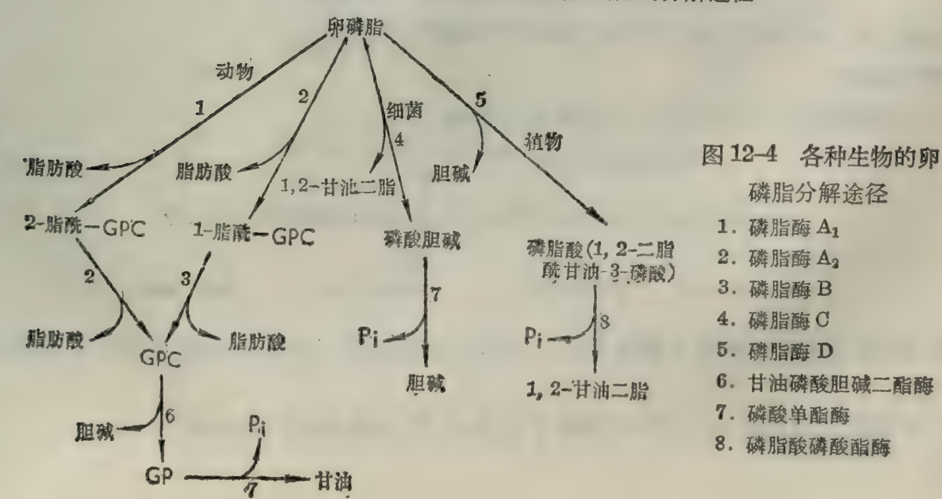


图 12-4　各种生物的卵磷脂分解途径

三、磷脂的生物合成

卵磷脂有两条主要的合成途径。

1. 全程合成途径(也称“从无到有”途径)

卵磷脂分子内的胆碱是在磷脂酰乙醇胺或磷脂酰丝氨酸的基础上合成的，而不是用完整的胆碱作为原料。在此途径中动物和细菌合成磷脂酰乙醇胺的过程不完全相同。

(1) 磷脂酰乙醇胺的合成

细菌中:

1) 磷脂酸的合成:磷脂酸主要是从α-磷酸甘油和2分子脂酰CoA(十六酰CoA和十八酰CoA)反应生成:

$$2\,RC(=O)\sim SCoA + \begin{array}{c} H_2COH \\ | \\ HOCH \\ | \\ H_2COPO_3H_2 \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} H_2CO-C(=O)-R \\ | \\ RC(=O)-OCH \\ | \\ H_2COPO_3H_2 \end{array} + 2\,HSCoA$$

α-磷酸甘油　　L-α-磷脂酸

2) 从磷脂酸形成磷脂酰丝氨酸：磷脂酰丝氨酸是通过图12-5二步反应生成的，反应需要胞苷三磷酸 (CTP)。CTP的作用有如将磷脂酸传递给丝氨酸的载体。

3) 从磷脂酰丝氨酸形成磷脂酰乙醇胺:

$$\begin{array}{c} H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{C}}R_1 \\ | \\ R_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OCH \\ | \\ H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^-)-OCH_2\overset{H}{C}(COO^-)-\overset{+}{N}H_3 \end{array} \xrightarrow{\nearrow CO_2} \begin{array}{c} H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{C}}R_1 \\ | \\ R_2\overset{O}{\overset{\|}{C}}-OCH \\ | \\ H_2CO-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(O^-)-OCH_2CH_2\overset{+}{N}H_3 \end{array}$$

磷脂酰丝氨酸　　磷脂酰乙醇胺

上述三步反应主要存在于大肠杆菌和大多数细菌中。

哺乳动物中:

1) 乙醇胺先和ATP作用,生成磷酸乙醇胺:

$$^-O-CH_2CH_2\overset{+}{N}H_3 + ATP \xrightarrow{Mg^{2+}} {}^-O-\overset{O}{\overset{\|}{P}}(OH)-O-CH_2CH_2\overset{+}{N}H_3 + ADP$$

乙 醇 胺　　腺苷三磷酸　　磷酸乙醇胺　　腺苷二磷酸

2) 磷酸乙醇胺与胞苷三磷酸 (CTP) 作用，生成胞苷二磷酸乙醇胺 (CDP-乙醇胺)(图12-6)。

3) CDP-乙醇胺与L-1, 2-二脂酰甘油作用,生成磷脂酰乙醇胺(图12-6)。

L-α-磷脂酸

CTP

胞苷酸转移酶

CDP-甘油二脂

+ PPi

丝氨酸

磷脂酸转移酶

磷脂酰丝氨酸

CMP

图 12-5 细菌中磷脂酰丝氨酸的合成途径

磷酸乙醇胺 + CTP

胞苷酸转移酶

PPi

CDP-乙醇胺

L-1, 2-二脂酰甘油

脂酰甘油转移酶

磷脂酰乙醇胺 + CMP

图 12-6 哺乳动物中磷脂酰乙醇胺的合成途径

(2) 卵磷脂的合成　磷脂酰乙醇胺被从 S-腺苷甲硫氨酸上来的甲基经过三次甲基化作用，最后生成卵磷脂(图 12-7)。

图 12-7　从磷脂酰乙醇胺合成卵磷脂的过程

2. 补救途径

从食物取得完整的胆碱也可以作为合成卵磷脂的前体。当全程合成途径受到障碍或所合成的卵磷脂不能满足需要时，则可通过此途径来进行补救，因此称为补救途径。

在此途径中，关键物质是胞苷二磷酸胆碱（简称 CDP-胆碱）。据报道，头部创伤引起的意识丧失与脑中卵磷脂水平的降低有密切联系。脑中磷脂代谢在受损状态下，CDP-胆碱可以改善卵磷脂的代谢，从而促进意识的恢复。临床实践证明，在脑外伤所引起的意识障碍病例中 CDP-胆碱对于促进苏醒有肯定疗效。对一些慢性病如偏瘫、中枢性眩晕、神经性耳聋等症，也有一定的疗效。CDP-胆碱的结构式如下：

$$(CH_3)_3\overset{+}{N}CH_2CH_2O-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{\underset{O^-}{|}}{P}}\sim O-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{\underset{O^-}{|}}{P}}-OCH_2 \quad O=C \ (\text{cytosine: } NH_2, N, CH, CH, N;\ \text{ribose: } O, H, H, H, H, OH, OH)$$

CDP-胆碱也参与鞘磷脂的合成，它可将磷酰胆碱转至 N-脂酰鞘氨醇 (ceramide) 上而形成鞘磷脂。

卵磷脂合成的补救途径是通过下列几个步骤而完成的：

$$1.\quad 胆碱 + ATP \xrightarrow[Mg^{++}]{胆碱激酶} {}^-O-\overset{\overset{O}{\|}}{\underset{\underset{OH}{|}}{P}}-OCH_2CH_2\overset{+}{N}(CH_3)_3 + ADP$$

磷酸胆碱

$$2\quad 磷酸胆碱 + CTP \xrightleftharpoons{Mg^{++},磷酸胆碱-胞苷酸转移酶} CDP-胆碱 + PPi$$

$$3.\quad CDP-胆碱 + 1,2-甘油二酯 \xrightleftharpoons{Mg^{++},磷酸胆碱-甘油酯转移酶} 卵磷脂 + CMP$$

这些参与合成过程中的酶存在于动物的肝中，也存在于脑、肠粘膜和骨胳肌中。

第三节　胆固醇代谢

胆固醇是复杂的多环醇。在生物体内除胆固醇外，还有一些与胆固醇相似的物质，例如在生理上具有重要作用的 7-脱氢胆固醇（维生素 D_3 的前体）和类固醇激素等，它们都是从胆固醇衍生而来。胆固醇是脊椎动物中的主要甾类，是构成组织的成分，它的结构式如下，简写式中每一个短线的端点代表一个甲基：

简写作　　　　　　或

胆固醇分子的环状结构部分大致是平面的，一般用实线表示其衍生物中与环核相连的突出在平面上的基团，而用虚线表示在平面下的基团。在平面以上的取代基称为β，在平面以下的取代基称为α。

一、胆固醇的消化和吸收

胆固醇的消化和吸收有三大特点：

(1) 再循环(或称肠肝循环)　食入的胆固醇吸收后又可通过胆汁或肠壁而排入肠腔，象这样排泄进入肠中的胆固醇称为内源胆固醇，它们和膳食中的胆固醇混合在一起而被重新吸收。大多数内源胆固醇来自胆汁，约占胆固醇总吸收量的一半，因此再循环是胆固醇吸收的突出特点。

(2) 吸收延迟　在动物实验中，口服标记胆固醇后，血中比活性的顶点是在2～3天。胆固醇在小肠中受到胆汁盐的乳化而进入肠上皮细胞；胆固醇酯在吸收之前需先受到肠腔中胰酯酶的催化作用水解成游离的胆固醇。在肠上皮细胞中胆固醇必须重新酯化，然后才能通过淋巴系统进入血液循环。由于胆固醇在上皮细胞中的酯化速度缓慢，这可能是它在血中延迟出现的原因之一。

(3) 吸收有限　与脂肪的吸收相比，肠道吸收胆固醇的能力极为有限。有人发现动物每日只能吸收2克胆固醇，仅仅是脂肪吸收量的$\frac{1}{500}\sim\frac{1}{200}$。

二、胆固醇的分解

1. 转变成胆甾烷醇和粪甾醇

在所有组织中，总是有少量的胆甾烷醇(二氢胆固醇)和胆固醇伴随在一起。在胆甾烷醇中，A环和B环成反式关系，结构式如下：

对胆甾烷醇的来源迄今并不十分清楚。在粪便中的胆甾烷醇可能是通过肠道微生物对胆固醇的作用而生成的。

胆固醇还可被肠道中微生物作用而还原生成粪甾醇，其 A 和 B 环成顺式关系，反应过程如下：

胆固醇(胆甾醇)　　胆甾烯酮(胆甾-4-烯-3-酮)

粪甾烷酮　　粪甾醇

上式中 R 代表：

$$-\underset{\displaystyle H}{\overset{\displaystyle CH_3}{C}}-CH_2-CH_2CH_2CH\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}$$

2. 转变成胆酸

大约有 80% 的胆固醇被肝组织代谢而转变成胆酸，实验证明转变过程大致是先有胆固醇环状结构(简称环核)的羟化，然后再有侧键的降解而最终生成胆酸。根据实验结果所提出的反应过程如图 12-8。

(1) 环核的羟化　根据一些实验结果提出在胆酸形成的早期主要过程可能如下：

胆固醇→7α-羟胆固醇→7α-羟胆甾-4-烯-3-酮→7α, 12α-二羟胆甾-4-烯-3-酮→7α, 12α-二羟-5β-胆甾烷-3-酮→5β-胆甾烷-3α, 7α, 12α-三醇。

胆固醇早期分解代谢中间物如 7α-羟胆固醇的脂肪酸酯，可能参与胆固醇的分解代谢。很可能胆固醇必需先转变成 7α-羟胆固醇的多烯脂肪酸酯，然后才能顺利地进行分解代谢，在这方面尚有待于进一步研究。增加喂食动物的亚油酸量，胆固醇的合成速度固然有所增

7α-羟化酶
NADPH，O_2

胆固醇

7α-羟胆固醇
(胆甾-5-烯-3β，7α-二醇)

β-3-酮类固醇异构酶

12α-羟化酶

7α，12α-二羟胆固醇
(胆甾-5-烯-3β，7α，12α三醇)

7α-羟胆甾-4-烯-3-酮

12α 羟化酶
NADPH
O_2

7α，12α-二羟胆甾-4-烯-3-酮

7α，12α-二羟-5β-胆甾烷-3-酮

5β-胆甾烷-3α，7α-二醇
(3α，7α-二羟类甾烷)

NADPH，O_2
12α-羟化酶

5β-胆甾烷-3α，7α，12α-三醇(3α，7α，12α-三羟类甾烷)

CH_2OH

5β-胆甾烷-3α，7α，12α，26-四醇

COOH

3α，7α，12α-三羟-5β 胆甾烷酸

COSCoA

3α，7α，12α-三羟-5β-胆甾烷酰 CoA

$CH_3CH_2COSCoA$

COCoA

胆酰 CoA

图 12-8 胆固醇转变成胆酸的反应过程

高，但更能升高胆固醇的排泄速度和胆固醇分解为胆酸的降解速度，有人认为这是因为与多烯脂肪酸结合的胆固醇酯比与饱和脂肪酸结合的胆固醇酯更为有利于代谢。众所周知，多非饱和脂肪酸如亚油酸($\Delta^{9,12}$-十八碳二烯酸)等能降低血浆胆固醇浓度，因此目前预防动脉硬化的降低血脂药物的主要成分是亚油酸。亚油酸除了有降低血浆胆固醇浓度的作用外，还能改变胆固醇中脂肪酸的类型，也就是使胆固醇酯中的多烯脂肪酸增多。对于多烯脂肪酸如何影响胆固醇浓度的作用机制还不很明确。

环核羟化大多需 NADPH 和 O_2，O_2 的一个氧原子进入底物，另一个氧原子和 NADPH 上的氢构成水分子，此反应由双功能氧化酶所催化。近年报道维生素C有降胆固醇的作用。胆固醇的环核羟化可因维生素 C 而增强，动物喂食大量胆固醇可使肝内的维生素 C 含量明显减少等等现象说明维生素 C 与胆固醇代谢有密切关系。

(2) 侧链的氧化　侧链降解的主要途径是经 ω-氧化，即侧链 ω 位的碳首先氧化，后再通过一种“β”氧化作用以丙酰辅酶 A 的形式脱下末端的 C_3 物，生成胆酰辅酶 A。胆酰

$$\text{胆固醇} \xrightarrow{2NADPH+2H^++2O_2 \rightarrow 2NADP^++2H_2O} \text{20, 22-二羟胆固醇} \xrightarrow{NADPH+H^++O_2 \rightarrow H_2O} [\;] \xrightarrow{H_2O} \text{孕(甾)烯醇酮} + \text{异己醛}$$

胆固醇

20, 22-二羟胆固醇

H_3C > $CH-CH_2CH_2-\overset{H}{C}=O$

异己醛

孕(甾)烯醇酮

图 12-9　胆固醇侧链裂解过程

CoA 与甘氨酸或牛磺胆酸等结合生成甘氨胆盐或牛磺胆盐等。胆固醇降解所形成的胆盐和胆固醇、磷脂等混合在一起而排泄于胆汁中，应注意到的是，在胆汁中以高浓度排出的胆酸大半是被胆囊粘膜和肠粘膜重新吸收进入门静脉再回至肝。胆酸的这种小循环称为再循环或肠肝循环。

3．转变成其他物质

(1) *胆固醇能转变成类固醇激素* 肾上腺、睾丸和卵巢的线粒体酶能催化胆固醇侧链 C–20 和 C–22 间的裂解，产生孕(甾)烯醇酮和异己醛(图 12–19)。

上述反应需要 NADPH 和分子氧，顺次在 C–20、C–22 以及 C–20 和 C–22 之间加氧，然后再脱去一分子水并在 C–20 和 C–22 的氧之间的键上发生裂解(见方括弧)，产生孕烯醇酮和异己醛。

孕(甾)烯醇酮是一些类固醇激素如皮(甾)酮、皮(甾)醇、孕(甾)酮、睾(甾)酮等的前体。

(2) *转变成 7–脱氢胆固醇* 在肠吸收胆固醇时，有一部分胆固醇被肠粘膜脱氢生成 7–脱氢胆固醇。7–脱氢胆固醇在皮肤中含量丰富，是天然的抗佝偻病因素，经日光照射后，由于紫外线作用而可转变成维生素 D_3。植物的麦角甾醇(含于酵母、麦角及霉菌中)经日光照射后亦可转变为维生素 D_2 而被人体吸收，亦有抗佝偻病作用，但麦角甾醇不能被人体吸收。

三、胆固醇的生物合成

动物除从食物中得到胆固醇以外，自己也能合成，这种内源胆固醇的碳原子均从乙酰 CoA 衍生而来。肝脏是合成胆固醇的主要部位，是供给血浆胆固醇的来源。其他组织如肠、肾上腺、皮肤、神经组织、大动脉和生殖器官也能合成少量的胆固醇。

生物体内不少萜类物质如胡萝卜素、橡胶、胆固醇等都是以异戊二烯的碳架通过缩聚作用而形成的。乙酰辅酶 A 是合成异戊二烯碳架的前体。大致过程见图 12–10。

1．乙酰 CoA 转变为甲羟戊酸(β–δ–二羟基–β–甲基戊酸或 3–甲基–3, 5–二羟基戊酸，简写作 MVA)

乙酰乙酰 CoA 是正常脂肪分解代谢的产物(参阅图 12–1)，也可由 2 个乙酰 CoA 缩合生成。从 3–羟–3–甲基–戊二酸单酰辅酶 A(HMG–CoA) 还原成为甲羟戊酸是胆固醇合成中的关键反应，3–羟–3–甲基–戊二酸单酰辅酶 A 还原酶催化此不可逆反应。此反应是胆固醇生物合成中的一个重要控制点，也是脂肪酸代谢与类固醇合成的分支点。甲羟戊酸一旦形成，除了用来合成类固醇，别无其他途径可走。

$$2\,CH_3COSCoA \rightleftharpoons CH_3COCH_2COSCoA + HSCoA$$

$$\underset{\text{乙酰乙酰 CoA}}{CH_3COCH_2COSCoA} + \underset{\text{乙酰 CoA}}{CH_3COSCoA} + H_2O \rightleftharpoons \underset{\text{3–羟–3–甲基–戊二酸单酰 CoA (HMG–CoA)}}{HOOCCH_2\text{—}\overset{OH}{\underset{CH_3}{\overset{|}{\underset{|}{C}}}}\text{—}CH_2COSCoA} + CoASH$$

HMGCoA

$\xrightarrow{2NADPH+2H^+ \;\rightarrow\; 2NADP^+}$

$$HOOC\overset{\alpha}{C}H_2-\overset{\overset{OH}{|}}{\underset{\underset{CH_3}{|}}{\overset{\beta}{C}}}-\overset{\gamma}{C}H_2\overset{\delta}{C}H_2OH + HSCoA$$

甲羟戊酸 (MVA)

(1) $2C_2 \rightarrow$ C—C—C—C $\xrightarrow{C_2}$ C—C—C(—C)—C—C $\xrightarrow{-CO_2}$ C₂>C—C—C (C_5)

(2) 2 C₂>C—C—C → (C_{10})

(3) C₂>C—C—C + C₂>C—C—C—C—C₂>C—C—C → (C_{15})

(4) $2C_{15}$ → (C_{30})

图 12-10 从乙酰辅酶 A 合成异戊二烯碳架和萜类物质示意图

甲羟戊酸　　5-磷酸甲羟戊酸　　5-焦磷酸甲羟戊酸

3-异戊烯(醇)焦磷酸酯　　3, 3 二甲基丙烯(醇)焦磷酸酯

牻牛儿(醇)焦磷酸酯　　法呢(醇)焦磷酸酯

中间体

鲨烯

图 12-11　甲羟戊酸转变为鲨烯的过程

1. 甲羟戊酸激酶　2. 磷酸甲羟戊酸激酶　3. 焦磷酸甲羟戊酸脱羧酶　4. 异戊烯焦磷酸异构酶　5. 牻牛儿醇缩合酶　6. 法呢醇缩合酶　7. 鲨烯合成酶

2. 甲羟戊酸转变为鲨烯

甲羟戊酸在三个接连的反应中被 ATP 磷酸化，生成相应的5-磷酸甲羟戊酸，5-焦磷酸甲羟戊酸，后者再被 ATP 磷酸化并脱羧，所生成的异戊烯焦磷酸酯有一部分迅速异构化成为二甲基丙烯焦磷酸酯。这两个异构体是合成多聚异戊二烯类化合物的关键物质，也是类固醇生物合成中的碳和碳相连反应的基础。由于二甲基丙烯焦磷酸酯被一强酸所酯化，是一个吸电子剂，而异戊烯焦磷酸酯由于其末端双键亚甲基，是一个亲质子剂，所以这两个化合物很易缩合形成单萜衍生物牻牛儿(醇)焦磷酸酯。在缩合过程中，二甲基丙烯焦磷酸酯脱去焦磷酸而生成一个正碳离子去袭击异戊烯焦磷酸的带负电的末端亚甲基，因而"头和尾"缩合起来，在牻牛儿(醇)焦磷酸酯和另一个分子的异戊烯(醇)焦磷酸酯之间又重复进行这种"头和尾"的缩合而生成倍半萜衍生物法呢(醇)焦磷酸酯。在无氧的情况下，以 NADPH 为辅酶，2分子法呢醇焦磷酸酯"头和头"地缩合，生成一个对称的卅碳三萜烯，称为鲨烯，此反应包含一个中间体，后者由一分子法呢焦磷酸酯的1位碳和另一分子法呢焦磷酸酯的2位碳缩合而成(图 12-11)。

3. 鲨烯转变为胆固醇

鲨烯 —(NADPH, O_2)→ 羊毛甾醇

鲨烯环化生成羊毛甾醇的作用分两步进行(图 12-12)。第一步由鲨烯环氧酶所催化，在分子氧和还原辅酶 II 同时存在的情况下，鲨烯形成环氧化鲨烯。第二步由环氧化鲨烯环化酶所催化，环氧化鲨烯环化成为羊毛甾醇，在环化的过程中并伴有甲基的转移，即C-14的甲基转移到 C-13 上，C-8 的甲基转移到 C-14 上。

鲨烯 —1→ 环氧化鲨烯 —2→ 羊毛甾醇

图 12-12 鲨烯环化生成羊毛甾醇的过程

1. 鲨烯环氧酶 2. 环氧化鲨烯环化酶

羊毛甾醇经过侧链上双键饱和、双键移位（$\Delta 8 \rightarrow \Delta 5$）以及在 C-4 和 C-14 上的三个甲基的脱除这三种结构上的变化后，转变成为胆固醇。

4. 影响胆固醇合成的因素

喂食胆固醇或其他能转变成为胆固醇的物质如鲨烯，均能抑制胆固醇的合成。胆固醇的合成速度与食物中胆固醇量的多少成反比关系。当胆固醇有所损失如胆道瘘管时，则促进胆固醇的合成。影响胆固醇合成速度的关键是从 β-羟-β-甲基-戊二酸单酰 CoA 还原生成甲羟戊酸这一步反应。合成速度亦受其他因素的影响，如糖尿病时，胆固醇合成速度增加，这是由于脂肪代谢所产生的乙酰 CoA 不能进入三羧酸循环，亦不能合成脂肪，故在肝脏合成胆固醇。近年发现甾类激素能抑制羊毛甾醇向胆固醇转变。

四、胆固醇的病理性积聚

1. 在胆道中形成胆固醇结石

胆固醇不溶于水，但易溶于含胆汁盐的水溶液中，因此胆汁中胆固醇的浓度很高。当胆囊粘膜重新吸收胆囊中的水和胆汁盐的过程进行得太过分时，例如在胆囊炎时，则胆固醇从胆汁中结晶析出而形成胆固醇结石。

2. 在动脉内膜形成含胆固醇斑纹造成动脉硬化

在动脉粥样硬化（简称动脉硬化）症患者的血浆中，大多有胆固醇浓度升高以及胆固醇/磷脂比值升高的现象。在动脉硬化过程中脂质沉着于血管壁的机理，有种种学说。目前得到最多支持者，是脂质过滤说。由于动脉内膜和粥样斑纹内脂质的组成情况与血浆脂质的分类相似，故认为动脉硬化是血浆脂质向内膜浸润所致。在动脉壁的代谢中，必要的营养和氧的供给以及代谢产物的移除均由管腔通过管壁向动脉外膜的淋巴管不断移动，以组织液的扩散形式进行着。在正常状态下，从血流进入动脉壁的脂蛋白，经管壁中酶系统的作用分解后，一部分被管壁细胞摄取并消耗，大部分通过管腔经外膜淋巴管运走，当血流内脂质增多时，带有脂质粒子的血液，在流向动脉外膜淋巴管途中可发生滞留。血中脂质正常，但动脉内膜变厚，血压增高时，也会发生同样现象。据报道，给大鼠注射血管紧张肽，在动脉内膜中会产生暂时性细胞间隙。当患有高血压时，血管紧张肽增高，因而血管的通透性增加，脂类等在细胞间隙中易被俘获，这可能是粥样斑形成的另一种机理。

血浆中的脂质大多和蛋白结合在一起，以脂蛋白的形式存在。血浆中的脂蛋白有 α-脂蛋白、β-脂蛋白、β 前-脂蛋白和乳糜微粒四种。它们都是由胆固醇、甘油三酯、磷脂和蛋白质所组成，但相互间的比例很不相同，其中以 β-脂蛋白所含的胆固醇量为最多，α-脂蛋白次之，β 前-脂蛋白（又称前 β-脂蛋白）再次之，而乳糜微粒最少，见图 12-13。人体脂类代谢失调，血液中的某一种或多种脂蛋白含量增高，称为高脂蛋白血症。根据血清外观，胆固醇和甘油三酯的数值和二者的比值及脂蛋白电泳，可将各种高脂蛋白血症分型，这对指导合理的治疗有一定的帮助。目前临床上广为采用的醋酸纤维薄膜电泳可将血浆脂蛋白分为四部分，见图 12-14。

乳糜微粒：直径最大，所含脂类的比例（98%）亦最大，电泳时停留在原点。它是比重最小的脂蛋白，简称 CM。

β 前-脂蛋白：直径和所含脂类的比例（90%）仅次于乳糜微粒，电泳时出现在 α_2 球蛋白

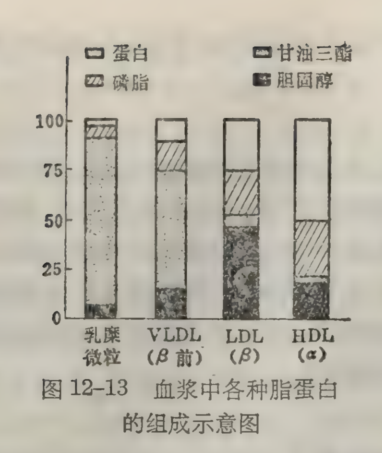


图 12-13　血浆中各种脂蛋白的组成示意图

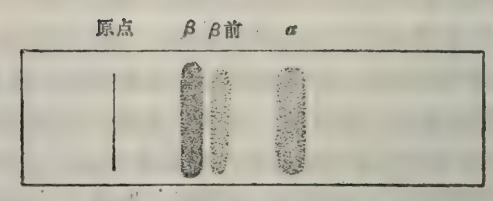


图 12-14　血浆脂蛋白的电泳图

的位置，它相当于超离心分析中的极低密度脂蛋白(简称 VLDL)，比重稍大于乳糜微粒。

β-脂蛋白：直径和所含脂类的比例(78%)比前二者为小，电泳时，它出现在β-球蛋白的部位，相当于超离心分析中的低密度脂蛋白(简称 LDL)，比重大于 VLDL。

α-脂蛋白：直径和所含脂类的比例(67%)次于β-脂蛋白，电泳时出现在α_1-球蛋白的位置，相当于超离心分析中的高密度脂蛋白(简称 HDL)，它是这四种血浆脂蛋白中比重最大的一种。

血浆脂蛋白溶于水并呈球形，核心部分为甘油三酯和胆固醇，其外为一层甘油磷脂，最外面为蛋白质所覆盖。

LDL 内胆固醇约占 46%，甘油三酯和甘油磷脂合占约 32%，蛋白质约占 21%。目前认为它的作用是将胆固醇从肝脏运送至外周组织。乳糜微粒和 VLDL 内均含较多的甘油三酯，它们的功能是运送甘油三酯。HDL 对动脉粥样硬化具有防护作用，目前认为它的作用是将外周组织多余的胆固醇运送回肝脏而降解。一般认为β-脂蛋白的增高最易引起动脉粥样硬化。此外，高血压、高血糖、吸烟以及缺少运动等等因素也都与动脉硬化的形成有关。

表 12-1　四种血浆脂蛋白的组分和特性

	CM	VLDL	LDL	HDL
比　　重	<1.006	1.006～1.019	1.019～1.063	1.063～1.21
直　径　Å	5000～10000	300～700	200～250	100～150
漂浮常数*	>400	12～400	0～12	
电泳图位置	原　点	α_2-球蛋白	β-球蛋白	α_1-球蛋白
毫克/100 毫升血浆	100～250	130～200	210～400	50～130
组分:				
蛋白质	2	9	21	33
甘油磷脂	7	18	22	29
胆固醇				
游离型	2	7	8	7
酯　型	6	15	38	23
甘油三酯	83	50	10	8
脂肪酸		1	1	

* 漂浮常数即 S_f，$1S_f=10^{-13}$ 厘米/秒/达因/克。

由于血浆中各种脂蛋白的量变动时，胆固醇的量却仍可保持不变，所以测定血浆中各种脂蛋白的相对浓度要比单独测定胆固醇浓度更具有临床价值。

血脂的正常平均值大体如下（由于检验方法、调查对象不同，各医院的正常值并不完全一致）：

总　　　脂	400～700 毫克 %
胆　固　醇	110～220 毫克 %
甘 油 三 酯	45～130 毫克 %
脂蛋白电泳	α-脂蛋白 21～45%
	前 β-脂蛋白 0～28.5 %
	β-脂蛋白 39～70%
磷　　　脂	150～270 毫克 %
游离脂肪酸	180～480 微克当量/升

3．其他

尚有一些胆固醇病理性积聚的疾病，对于它们的发病机理，有些已逐渐为人们所了解。如家族性高胆固醇血症是一种遗传性疾病，可能是在胆固醇生物合成的反馈控制点上发生了某种阻遏机制的障碍。无 β-脂蛋白血症也是一种遗传性疾病，症状之一是有大量胆固醇等脂类沉积于小肠细胞内，病人不能合成 β-脂蛋白中的蛋白质。家族性 α-脂蛋白缺失症的病人，许多组织中沉积有胆固醇，这可能是由于高密度脂蛋白合成障碍所致。黄瘤病又称黄脂增生症，病人在皮肤、骨胳等组织中有多发性含大量胆固醇的脂瘤，伴有高胆固醇血，禁食胆固醇等动物脂类有助于症状的改善，病因不详。

在临床上亦有血中胆固醇虽高，但无胆固醇病理积聚的情况，如在甲状腺机能减退伴高胆固醇血症的病例中有此情况，但原因尚有待于进一步探讨。

第十三章　蛋白质和氨基酸代谢

蛋白质是生物体最重要的两个基本成分之一(另一个为核酸)。代谢作用的关键是酶，而酶的化学本质就是蛋白质；细胞膜、线粒体膜等生物膜内都含有大约60～70%的蛋白质(30～40%为脂质类)；动物的肌肉也是由蛋白质组成；蛋白质又是血液的主要成分。生物体内既然普遍存在着蛋白质，因此生物必须从环境中摄取合成蛋白质所需要的原料来合成自身的蛋白质。体内已有的蛋白质也不断地分解进行更新。

生物用什么原料来合成蛋白质呢？由于不同的生物合成蛋白质的能力不同，他们所采用的原料也不相同。有些生物可以用氮气作为原料，例如固氮菌可以从氮气合成铵盐，从铵盐合成氨基酸，然后再合成蛋白质。高等植物和某些微生物则可以用铵盐或硝酸盐作为氮源，但不能利用氮气。人、动物和另一些微生物则不能利用无机氮化合物，必须用氨基酸或蛋白质作为氮源。食物中的蛋白质必须先行分解为氨基酸，然后再合成生物自身的蛋白质。

第一节　蛋白质的消化

人或动物吃了蛋白质食物后在胃里受到胃蛋白酶的作用，分解为分子量较小的肽，进入小肠后受到来自胰脏的胰蛋白酶和糜蛋白酶的作用，进一步分解为更小的肽，小肽又被肠粘膜里的二肽酶、氨肽酶和胰腺分泌的羧肽酶分解为氨基酸，被肠壁细胞吸收，进入肝脏通过血液循环输送到全身各个器官或组织。在某些特殊情况下，例如蛋白酶受到抑制或消化液中蛋白酶的浓度过低时，少量的蛋白质也会被直接吸收进入血液，这可能就是有时发生食物蛋白过敏的原因。

凡能利用蛋白质的微生物也象人或动物一样分泌出蛋白酶。蛋白酶将培养基里的蛋白质分解为氨基酸，吸收到细胞里去。栖土曲霉、枯草杆菌能分泌大量蛋白酶，工业上采用这些菌种进行培养，制备蛋白酶制剂。

施在农田作物上的氮肥有无机氮肥和有机氮肥，无机氮肥主要为铵盐，有机氮肥主要为人粪尿及厩肥，其中包含有未消化的食物及含氮的排泄物。蛋白质经土壤中的微生物分解为氨基酸后可被植物吸收利用。动植物尸体中的含氮有机物也要经过微生物分解或转化为简单的含氮物后再被植物吸收。

第二节　氮　平　衡

成长的人(或动物)吃进的食物中的含氮量和排泄物(主要包括粪便和尿)内的含氮量往往相等，这种收支相等的情况称为“氮平衡”。正在成长的儿童或病后恢复期的成人，吃进的氮量大于排出的氮量，也就是说有一部分氮被保留在体内构成组织，这种情况称为“正氮平衡”。当患有消耗性疾病时，或者吃的蛋白质不足够时，排出的氮量大于吃进的氮量，这种

情况称为"负氮平衡"。

应用同位素技术证明即使在氮平衡状态下，食物氮也参加合成组织，同时老的组织也进行分解。这是一种动态的平衡，这种动态平衡的概念在二十世纪初叶还没有建立，认为在氮平衡时，食物中的氨基酸不是用来合成蛋白质，而是直接形成尿素排出体外，直到发明了用同位素来研究代谢作用以后，才改变了这种看法。

用 ^{15}N 标记的亮氨酸饲养处在氮平衡状态的鼠，收集粪便，三天后把它杀死，分析粪便和组织中蛋白氮和非蛋白氮标记的百分数：

粪(没有消化吸收的食物残渣)中		^{15}N 为吃进的 2.2%
尿(经过代谢作用的)中		^{15}N 为吃进的 27.4%
组织中	蛋白质的	^{15}N 为吃进的 56.5%
	非蛋白质的(包括标记的亮氨酸及其转化为其他标记的氨基酸或标记的铵离子)	^{15}N 为吃进的 8.2%

从以上的数据可以看出，组织的蛋白质内保留了 56.5% 的氮，而从尿中排出的只有 27.4%。这说明一个即使不在生长的动物，吃进去的氨基酸仍旧能参入到组织中去，并不全部直接排出。

第三节　必需氨基酸和非必需氨基酸

人和动物需要从食物中取得氨基酸来合成蛋白质，但也不是说组成蛋白质的 20 种氨基酸都必须直接由食物提供。有些氨基酸可以从糖代谢的中间产物转化而来，例如从 α-酮戊二酸转化为谷氨酸，从丙酮酸转化为丙氨酸，从草酰乙酸转化为天冬氨酸等。此外，还有一些氨基酸可以从另一些氨基酸得来，例如酪氨酸可以从苯丙氨酸转化而来，半胱氨酸及胱氨酸可以从甲硫氨酸转化而来。因此 20 种氨基酸中只有一部分必须从食物中供给，这些氨基酸就称为必需氨基酸；其他可以自己制造的氨基酸就称为非必需氨基酸。但是对于能够自己合成全部氨基酸的植物或微生物来讲，就无所谓必需或非必需了。

实验证明，下列 10 种氨基酸对于人类是必需的：

赖氨酸	甲硫氨酸	*精氨酸
色氨酸	亮氨酸	*组氨酸
苯丙氨酸	苏氨酸	
缬氨酸	异亮氨酸	

如果食物中缺少了上述任何一种氨基酸时，蛋白质就无法合成，而体内原有的蛋白质仍要进行分解，因此会出现生长不良、消瘦等病态。

每一种动植物蛋白质不一定都具备以上十种必需氨基酸，因此如果只吃某一种蛋白质，可能会引起营养不良。但如果同时吃几种不同来源的蛋白质，取长补短，就可以克服这个缺点，即使营养价值不高(指氨基酸种类不完全的蛋白质)的蛋白质也可以被合理利用。

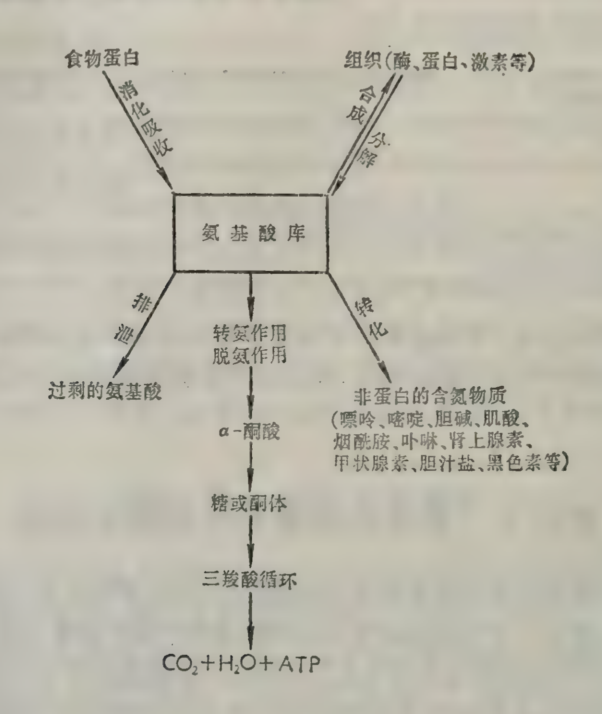
---

* 也有人把精氨酸和组氨酸称为半必需氨基酸，因为在人体内这两种氨基酸可以合成，但合成速度不快。

由于发酵工业的进展，可以通过微生物发酵廉价制造必需氨基酸。在儿童的膳食中如能补充必需氨基酸，可以帮助儿童更好地成长发育。

氨基酸除作为合成蛋白质的原料外，也可以作为能源。某些氨基酸还作为合成某些重要代谢物的原料。例如甘氨酸为合成胆碱、谷胱甘肽以及血红素卟啉环等的前体。甘氨酸、天冬氨酸、谷氨酰胺等都是合成嘌呤的原料。

下图概括了氨基酸在生物体内的来龙去脉：



第四节　氨基酸的一般代谢

氨基酸分子内含有氨基和羧基，因此在这两个基团上，各种氨基酸都有共同的代谢规律。氨基酸上的氨基可以脱去，形成酮酸或不饱和有机酸；氨基也可以转给另一个酮酸，使后者形成氨基酸；氨基酸上的羧基可以脱去 CO_2，生成胺。下面将分别讨论脱氨基作用、转氨基作用和脱羧作用。

一、脱氨基作用

氨基酸通过氨基酸氧化酶进行氧化脱氨作用生成酮酸和 NH_3。氨基酸氧化酶有两种，一种专门催化 L-氨基酸的氧化，称为 L-氨基酸氧化酶。另一种专门催化 D-氨基酸的氧化，称为 D-氨基酸氧化酶。L-氨基酸氧化酶是一种黄素蛋白，辅基为 FAD。L-氨基酸在该酶的催化下，先行脱氢，生成亚氨基酸，脱下的氢由黄素携带，亚氨基酸然后水解生成酮酸和 NH_3。后一步反应不需酶催化。还原状黄素蛋白上的氢转交到氧分子上形成 H_2O_2。呼吸链上氢的传递通过很多环节，这里氢的氧化仅仅通过一个酶而且没有 ATP 产生，所生成

的 H_2O_2 对细胞有毒性，由细胞内的过氧化氢酶分解为 H_2O 及氧。氧化脱氨作用的全部化学过程如下：

$$(1)\quad NH_2-\overset{R}{\overset{|}{C}}HCOOH \xrightarrow{酶} NH=\overset{R}{\overset{|}{C}}COOH + 2H$$

$$(2)\quad NH=\overset{R}{\overset{|}{C}}COOH + H_2O \longrightarrow O=\overset{R}{\overset{|}{C}}COOH + NH_3$$

$$(3)\quad 2H + O_2 \longrightarrow H_2O_2$$

$$(4)\quad 2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$$

L-氨基酸氧化酶虽然可以催化 L-氨基酸的脱氨基作用，但在体内分布不普遍，活力也低，所以在体内 L-氨基酸的脱氨基作用中，L-氨基酸氧化酶可能并不起主要作用。D-氨基酸氧化酶也是一种黄素蛋白，以 FAD 为辅基，在体内分布虽广，但体内 D 型氨基酸不多，因此这个酶的作用也不大。在实验室中常用这两种酶来鉴别某氨基酸的构型。如能被 L-氨基酸氧化酶分解的，则是 L-氨基酸；如能被 D-氨基酸氧化酶分解的，则是 D-氨基酸。这两种酶也可以用来分解掉一个人工合成的消旋氨基酸混合物中某一个不需要的光学异构体。

除了专一性低的 L- 氨基酸氧化酶外，还有一个在生物体内分布很广、对于 L-谷氨酸有专一性的 L-谷氨酸脱氢酶。L-谷氨酸脱氢酶可以催化 L-谷氨酸的脱氢脱氨反应。谷氨酸发酵工业上所用的谷氨酸产生菌的 L-谷氨酸脱氢酶的活力很强，有利于将糖代谢的中间产物 α-酮戊二酸转化为谷氨酸，转化过程中所需的还原辅酶 II 是由异柠檬酸的脱氢作用中提供。L-谷氨酸脱氢酶催化的反应如下：

$$\begin{array}{c}COOH\\|\\CH_2\\|\\CH_2\\|\\C=O\\|\\COOH\\\text{α-酮戊二酸}\end{array} + NH_3 \underset{}{\overset{-H_2O}{\rightleftharpoons}} \begin{array}{c}COOH\\|\\CH_2\\|\\CH_2\\|\\C=NH\\|\\COOH\\\text{α-亚氨基戊二酸}\end{array} \overset{NADP\cdot 2H}{\rightleftharpoons} \begin{array}{c}COOH\\|\\CH_2\\|\\CH_2\\|\\CHNH_2\\|\\COOH\\\text{谷氨酸}\end{array}$$

除上述的氧化脱氨基作用外，还有少数氨基酸可以通过其他方式脱氨，例如天冬氨酸酶对天冬氨酸的脱氨作用，苏氨酸脱氨酶（也称苏氨酸脱水酶）对苏氨酸的脱氨作用。

$$\begin{array}{c}COOH\\|\\CHNH_2\\|\\CH_2\\|\\COOH\\\text{天冬氨酸}\end{array} \overset{\text{天冬氨酸酶}}{\rightleftharpoons} \begin{array}{c}COOH\\|\\CH\\\|\\HC\\|\\COOH\\\text{延胡索酸}\end{array} + NH_3$$

$$\underset{\text{苏氨酸}}{CH_3\underset{OH}{\underset{|}{C}}H\,\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH} \xrightarrow[-H_2O]{\text{苏氨酸脱氨酶}} \left[CH_3CH=\underset{NH_2}{\underset{|}{C}}COOH \longrightarrow CH_3CH_2\underset{NH}{\underset{\|}{C}}COOH\right]$$

$$\xrightarrow{H_2O} \underset{\text{丁酮酸}}{CH_3CH_2\underset{O}{\underset{\|}{C}}COOH} + NH_3$$

二、转氨基作用

转氨基作用也称氨基移换作用。在转氨酶和辅酶磷酸吡哆醛的作用下，L-氨基酸上的氨基可以转移到α-酮酸上，使后者变为相应的L-氨基酸，原来的氨基酸失去氨基变为相应的酮酸。磷酸吡哆醛为维生素B_6的磷酸酯，这是维生素与代谢作用密切有关的又一例。转氨基作用的通式如下：

$$R_1\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH + R_2\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}COOH \xrightleftharpoons{\text{转氨酶磷酸吡哆醛}} R_1\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}COOH + R_2\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH$$

转氨基作用机制的细节虽然还没有完全弄清楚，目前一般认为它的中间过程大致如下：

(1)
$$\overset{\displaystyle R_1}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{HCNH_2}}}} + O{=}\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{CH}} \rightleftharpoons \overset{\displaystyle R_1}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{HC}}}}N{=}\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{CH}} \rightleftharpoons \overset{\displaystyle R_1}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{C}}}}{=}N{-}\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{\underset{\displaystyle H}{\underset{|}{CH}}}} \rightleftharpoons \overset{\displaystyle R_1}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{C}}}}{=}O + H_2N\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{CH_2}}$$

(2)
$$\overset{\displaystyle R_2}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{C}}}}{=}O + H_2N{-}\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{CH_2}} \rightleftharpoons \overset{\displaystyle R_2}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{C}}}}{=}N{-}\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{CH_2}} \rightleftharpoons \overset{\displaystyle R_2}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{HC}}}}{-}N{=}\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{CH}} \rightleftharpoons \overset{\displaystyle R_2}{\overset{|}{\underset{\displaystyle COOH}{\underset{|}{HCNH_2}}}} + O{=}\overset{\displaystyle P}{\overset{|}{CH}}$$

上式中PCHO代表磷酸吡哆醛：

CHO
HO— —$CH_2OPO_3H_2$
H_3C— N

PCH_2NH_2代表磷酸吡哆胺：

CH_2NH_2
HO— —$CH_2OPO_3H_2$
H_3C— N

在各种生物体内以谷丙转氨酶（简称GPT）和谷草转氨酶（简称GOT）的分布最广，活力最大。除苏氨酸和赖氨酸外，其他氨基酸都能进行转氨基作用。

(1)
$$\underset{\text{谷氨酸}}{HOOCCH_2CH_2\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH} + \underset{\text{丙酮酸}}{CH_3\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}COOH} \xrightleftharpoons{GPT} \underset{\alpha\text{-酮戊二酸}}{HOOCCH_2CH_2\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}COOH} + \underset{\text{丙氨酸}}{CH_3\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH}$$

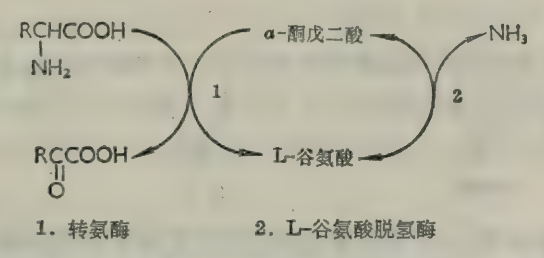
(2)
$$\underset{\text{谷氨酸}}{HOOCCH_2CH_2\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCOOH} + \underset{\text{草酰乙酸}}{HOOC\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}CH_2COOH} \xrightleftharpoons{GOT} \underset{\alpha\text{-酮戊二酸}}{HOOCCH_2CH_2\underset{\displaystyle O}{\underset{\|}{C}}COOH} + \underset{\text{天冬氨酸}}{HOOC\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}HCH_2COOH}$$

谷丙转氨酶主要存在于肝脏内，当肝脏细胞损伤时，酶就释放到血液内，于是血液内酶活力大大增高。因此在医学上常用这个酶活力的水平来推断肝功能是否正常。例如早期肝炎患者的酶活力一般大大高于正常人。

临床化验中测定 GPT 活力时用 α-酮戊二酸和丙氨酸作为底物，加入待测的血清，保温一定时间后，加入 2, 4-二硝基苯肼，与生成的丙酮酸作用，产物为苯腙，呈黄色(α-酮戊二酸与 2, 4-二硝基苯肼反应不灵敏，所以黄色主要是丙酮酸作用的结果)，520 毫微米比色，以纯粹的丙酮酸作标准。1 毫升血清在 37°C 作用 30 分钟，产生 2.5 微克丙酮酸者定为 1 个 GPT 单位，正常人血清为 2～40 单位。

转氨基作用是一个重要的生化反应，作为沟通蛋白质和糖代谢的桥梁，形成非必需氨基酸。如丙氨酸、谷氨酸、天冬氨酸可以分别通过丙酮酸、α-酮戊二酸、草酰乙酸的转氨基作用而形成。

动物体内氨基酸的脱氨基作用也可能主要是通过转氨基作用而进行的，因为 L-氨基酸氧化酶的活力不高。下图表示 L-氨基酸可以通过转氨酶和 L-谷氨酸脱氢酶的联合作用进行脱氨。



1. 转氨酶　　2. L-谷氨酸脱氢酶

除了氨基酸可以将氨基转给酮酸外，组织内广泛存在的天冬酰胺和谷氨酰胺也可以将 α-氨基转给酮酸。这个反应是不可逆的，因为形成的 α-酮酰胺很容易进行分解脱氨。

(1) $\underset{\text{谷氨酰胺}}{NH_2-\underset{\|}{\overset{}{C}}(=O)-CH_2CH_2-CH(NH_2)-COOH} + R-C(=O)-COOH \longrightarrow \underset{\alpha\text{-酮戊二酸-}\delta\text{-酰胺}}{NH_2-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)COOH} + R-CH(NH_2)COOH$

(2) $NH_2-C(=O)-CH_2CH_2-C(=O)-COOH \longrightarrow \underset{\alpha\text{-酮戊二酸}}{HOOCCH_2CH_2C(=O)-COOH} + NH_3$

三、脱羧基作用

氨基酸经氨基酸脱羧酶的催化进行脱羧作用，排出 CO_2 形成胺。这个反应也需要磷酸吡哆醛作为辅酶。

$$NH_2CH(R)COOH \longrightarrow NH_2CH_2(R) + CO_2$$

脱羧酶在微生物中分布较广，高等动植物组织内也有存在。一般来说，脱羧酶都是比较专一的，往往只能作用于某一种 L-氨基酸。利用比较专一的脱羧酶可以对一定的氨基酸作定量测定，从释放出的 CO_2 的量可以推算该氨基酸的量。例如在谷氨酸发酵工业上常应用

从大肠杆菌中制备的谷氨酸脱羧酶来测定发酵过程中谷氨酸的产量。

$$\underset{\text{谷氨酸}}{HOOC-CH_2-CH_2-CH(NH_2)-COOH} \longrightarrow \underset{\gamma\text{-氨基丁酸}}{HOOC-CH_2-CH_2-CH_2NH_2} + CO_2$$

脑组织中游离存在的 γ-氨基丁酸(GABA)就是从谷氨酸脱羧而来的, GABA 对中枢神经系统的传导有抑制作用。

天冬氨酸脱羧酶可使天冬氨酸脱羧形成 β-丙氨酸。β-丙氨酸是生物合成维生素泛酸的原料。

氨基酸脱羧后形成的胺对动物可以引起一定的药理作用。例如组氨酸的脱羧产物组胺具有扩张血管降低血压的作用,此外还能引起过敏作用;酪氨酸的脱羧产物酪胺则具有增血压的作用。

$$\underset{\text{组氨酸}}{\text{(咪唑基)}-CH_2CH(NH_2)COOH} \longrightarrow \underset{\text{组 胺}}{\text{(咪唑基)}-CH_2CH_2NH_2} + CO_2$$

某些微生物(如大肠杆菌)中的脱羧酶含量往往随着培养基的酸碱度而变化。在含有氨基酸而又偏酸性的培养基中,脱羧酶含量往往增加。脱羧后产生碱性的胺可以调整培养基的pH 值,有利于微生物的生长,这也是生物具有自我调节的一个例子。脱氨酶的活力也有同样的情况,即是在含有氨基酸而又偏碱性培养基中脱氨酶的含量往往增加(图 13-1)。

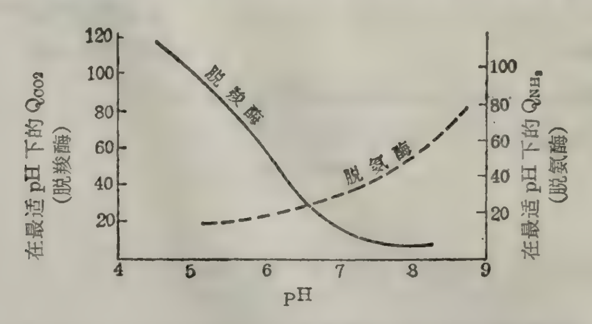


图 13-1 pH 对大肠杆菌中脱羧酶和脱氨酶含量的影响

第五节 氨的去路

生物怎样处理从氨基酸上所脱下的氨呢?生物完全可以把氨作为废料排泄出去,但氨是氮源,如果能够储藏起来,可以避免氮源的浪费。所以生物体内氨的去路不外两条:一条是储藏,一条是排泄。对于动物来说,由于容易获得氮源,所以储藏不是主要的。但是游离

的氨对于动物毒性很大，例如家兔血液中 NH_3 的浓度为 5 毫克 %（即 100 毫升血液中含 5 毫克 NH_3）时可以致死。正常人血中的氨浓度约在 30～100 微克 % 范围内。所以人或动物都有必要把游离的氨转化为无毒的物质。当肝脏发生严重病变，从氨基酸中分解出来的 NH_3 不能被肝脏转化为无毒的物质时，一般认为氨就在脑中合成谷氨酰胺达到解毒，可是合成谷氨酰胺是需要谷氨酸，而谷氨酸又与三羧酸循环中的中间产物 α-酮戊二酸密切有关，这就使脑中三羧酸循环不能畅通，影响有氧呼吸，造成昏迷（临床上称为肝昏迷）。对由于血氨升高造成肝昏迷的患者给以大量的谷氨酸可以缓解病情，也可以给大量的精氨酸，促进鸟氨酸循环，使 NH_3 转化为尿素而解除毒性。

$$\begin{matrix} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{谷氨酸} \end{matrix} + NH_3 \xrightarrow[\text{ATP, Mg}^{++}]{\text{谷氨酰胺合成酶}} \begin{matrix} CONH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{谷氨酰胺} \end{matrix} + H_2O$$

氨在植物中有比较明显的储藏作用。一些含蛋白质较丰富的植物种子（如大豆）在暗处发芽时，能源依靠蛋白质来提供。蛋白质首先分解成氨基酸，氨基酸再分解成酮酸和氨，酮酸再进行氧化分解，释放出能量。氨则和草酰乙酸、天冬氨酸形成天冬酰胺，当需要的时候，天冬酰胺分子内的氨基又可以通过天冬酰胺酶的作用分解出来，供合成氨基酸之用。

其他氨基酸 ⟶ 酮酸 + NH_3

酮酸 ⟶ $CO_2 + H_2O$ + 能量

蛋白质 ⟶ 天冬氨酸 ⇌ 草酰乙酸 ⟶ $CO_2 + H_2O$ + 能量

$$\begin{matrix} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{天冬氨酸} \end{matrix} \;\underset{NH_3}{\overset{NH_3}{\rightleftharpoons}}\; \begin{matrix} COOH \\ | \\ C{=}O \\ | \\ CH_2 \\ | \\ COOH \\ \text{草酰乙酸} \end{matrix}$$

$$\text{天冬氨酸} + NH_3 \longrightarrow \begin{matrix} COOH \\ | \\ CHNH_2 \\ | \\ CH_2 \\ | \\ CONH_2 \\ \text{天冬酰胺} \end{matrix}$$

在生产实践上可以应用这个生化现象从发芽的大豆来制备 L-天冬酰胺。天冬酰胺对不少微生物有生长刺激作用。

高等动物体内氨基酸的分解产物 NH_3 主要作为废物排出体外。有些动物是直接排氨的，例如淡水硬骨鱼是排氨的。有些动物则把 NH_3 转化为其他形式的含氮化合物再行排泄出来，例如鸟类排出的含氮物是尿酸，人类以及其他哺乳动物则将 NH_3 转化为尿素排出。

尿素形成机制——鸟氨酸循环：排尿素动物的尿素是在肝脏中形成的，将肝脏切除之后就没有尿素排出。用含 NH_3 的培养液培养大鼠肝片，有尿素形成。如果在这培养液中再

加入鸟氨酸或瓜氨酸，大大促进尿素形成的速度。此外还发现排尿素动物的肝中有精氨酸酶，这个酶能催化精氨酸分解为尿素和鸟氨酸。用含同位素氮的铵盐喂给排尿素的动物吃，在精氨酸的胍基上有 ^{15}N，而且全部 ^{15}N 都在排出的尿素上，可见氨是合成尿素的前体。上面的种种事实说明尿素的合成不是一步完成的，合成过程中包括鸟氨酸、瓜氨酸、精氨琥珀酸、精氨酸等四个中间产物。也象三羧酸循环一样，这几个中间物参加变化，但总量不变，保持着动态平衡，使整个过程循环进行，这过程称为鸟氨酸循环(图 13-2)。

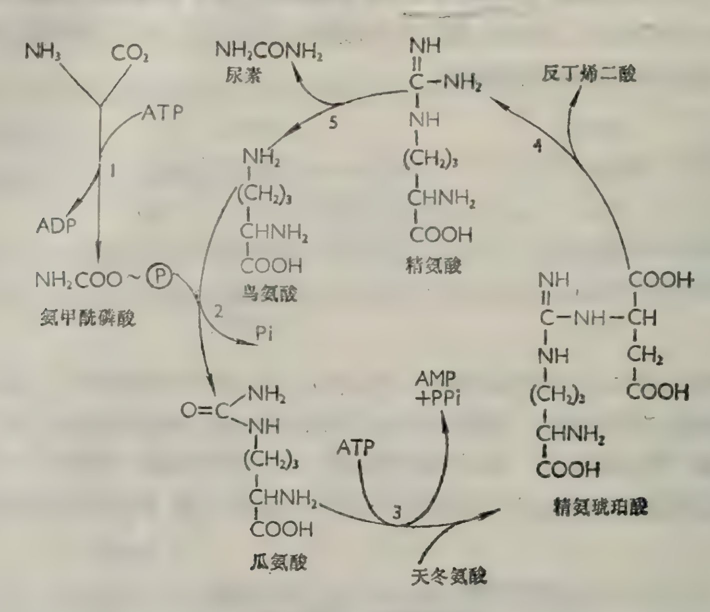


图 13-2　鸟氨酸循环

1. 氨甲酰磷酸合成酶　2. 鸟氨酸氨甲酰转移酶　3. 精氨琥珀酸合成酶
4. 精氨琥珀酸分解酶　5. 精氨酸酶

鸟氨酸循环中包括下面几个反应：

(1) 尿素分子中 N 的来源是氨基酸上脱下的氨，碳的来源是糖代谢产物 CO_2。NH_3 和 CO_2 通过氨甲酰磷酸合成酶的催化生成氨甲酰磷酸。某些生物(或某些组织)不能直接用 NH_3 而需要用谷氨酰胺作为氨的供体，大肠杆菌便属这种类型。

$$\begin{array}{l}COOH\\|\\CHNH_2\\|\\CH_2\\|\\CH_2\\|\\CONH_2\\\text{谷氨酰胺}\end{array} + CO_2 + 2\,ATP + H_2O \xrightarrow{\text{酶}} \underset{\text{氨甲酰磷酸}}{NH_2COO\sim\text{Ⓟ}} + 2\,ADP + Pi + \begin{array}{l}COOH\\|\\CHNH_2\\|\\CH_2\\|\\CH_2\\|\\COOH\\\text{谷氨酸}\end{array}$$

又如蛙肝脏可以直接用 NH_3，但催化此反应的酶可能要以 N-乙酰谷氨酸作为辅基。

$$NH_3 + CO_2 + 2\,ATP + H_2O \xrightarrow{\text{酶}} NH_2COO\sim\text{Ⓟ} + 2\,ADP + Pi$$

(2) 氨甲酰磷酸和鸟氨酸通过鸟氨酸氨甲酰转移酶的催化作用生成瓜氨酸。

$$\underset{\text{鸟氨酸}}{\begin{array}{l}NH_2\\ |\\ (CH_2)_3\\ |\\ CHNH_2\\ |\\ COOH\end{array}} + \underset{\text{氨甲酰磷酸}}{NH_2COO\sim Ⓟ} \longrightarrow \underset{\text{瓜氨酸}}{\begin{array}{l}O{=}C\begin{array}{l}NH_2\\ NH\end{array}\\ \quad |\\ \quad (CH_2)_3\\ \quad |\\ \quad CHNH_2\\ \quad |\\ \quad COOH\end{array}} + Pi$$

(3) 瓜氨酸通过精氨琥珀酸合成酶的催化作用和天冬氨酸结合生成精氨琥珀酸。

$$\underset{\text{瓜氨酸}}{\begin{array}{l}O{=}C\begin{array}{l}NH_2\\ NH\end{array}\\ \quad |\\ \quad (CH_2)_3\\ \quad |\\ \quad CHNH_2\\ \quad |\\ \quad COOH\end{array}} + \underset{\text{天冬氨酸}}{\begin{array}{l}\quad\ \ COOH\\ \quad\ \ |\\ H_2N{-}CH\\ \quad\ \ |\\ \quad\ \ CH_2\\ \quad\ \ |\\ \quad\ \ COOH\end{array}} + ATP \longrightarrow \underset{\text{精氨琥珀酸}}{\begin{array}{lll}NH & & COOH\\ \| & & |\\ C & {-}NH{-} & CH\\ | & & |\\ NH & & CH_2\\ | & & |\\ (CH_2)_3 & & COOH\\ | & & \\ CHNH_2 & & \\ | & & \\ COOH & & \end{array}} + AMP + \underset{\text{焦磷酸}}{PPi}$$

(4) 精氨琥珀酸通过精氨琥珀酸分解酶的作用，分解为精氨酸和反丁烯二酸：

$$\underset{\text{精氨琥珀酸}}{\begin{array}{lll}NH & & COOH\\ \| & & |\\ C & {-}NH{-} & CH\\ | & & |\\ NH & & CH_2\\ | & & |\\ (CH_2)_3 & & COOH\\ | & & \\ CHNH_2 & & \\ | & & \\ COOH & & \end{array}} \longrightarrow \underset{\text{精氨酸}}{\begin{array}{l}NH\\ \|\\ C{-}NH_2\\ |\\ NH\\ |\\ (CH_2)_3\\ |\\ CHNH_2\\ |\\ COOH\end{array}} + \underset{\text{反丁烯二酸}}{\begin{array}{l}COOH\\ |\\ CH\\ \|\\ HC\\ |\\ COOH\end{array}}$$

(5) 精氨酸通过精氨酸酶的作用分解出尿素和鸟氨酸。在排尿素动物的肝脏中精氨酸酶的量较不排尿素的动物为多，这一点也足证精氨酸酶与尿素合成的密切关系。

第六节　个别氨基酸的代谢

各种氨基酸的代谢除通过共同的代谢途径外，还有他们各别的代谢途径。氨基酸代谢途径的阐明对于氨基酸发酵工业以及医学都具有重要的实践意义。

从氨基酸分解产物的性质来讲，可以归纳为两类：生糖氨基酸和生酮氨基酸(表 13-1)。在还没有发明同位素示踪时，曾用摘除胰脏的动物或患实验性糖尿病的动物，来研究各种氨基酸的代谢产物是什么。给这种动物吃各种氨基酸，发现吃某些氨基酸后尿中有糖排出。给饥饿动物吃了这些氨基酸以后肝脏中有肝糖累积。吃另外一些氨基酸后则尿中有酮体排出。前一类氨基酸称为生糖氨基酸，后一类氨基酸称为生酮氨基酸。一般来讲，生糖氨基酸的分解中间产物大都是糖代谢过程中的丙酮酸、草酰乙酸或 α-酮戊二酸，或者与这几个物质有关的物质，生酮氨基酸的产物为乙酰辅酶 A，或乙酰乙酸。

表 13-1 生糖和生酮氨基酸

生糖氨基酸	生酮氨基酸	生糖并生酮氨基酸
丙氨酸	亮氨酸	异亮氨酸
精氨酸		赖氨酸
天冬氨酸		苯丙氨酸
胱氨酸		酪氨酸
半胱氨酸		
谷氨酸		
甘氨酸		
组氨酸		
羟脯氨酸		
甲硫氨酸		
脯氨酸		
丝氨酸		
苏氨酸		
色氨酸		
缬氨酸		

一、甘氨酸、丝氨酸

甘氨酸是一种非必需氨基酸，但是在生物体内所起的作用极大，除了作为合成蛋白质的原料以外，还是合成嘌呤、血红素分子中的卟啉环、甘氨胆盐、谷胱甘肽、肌酸等代谢物的前体。此外，甘氨酸还可以对芳香族物质起解毒作用，例如与苯甲酸形成无毒的马尿酸(图 13-3)。

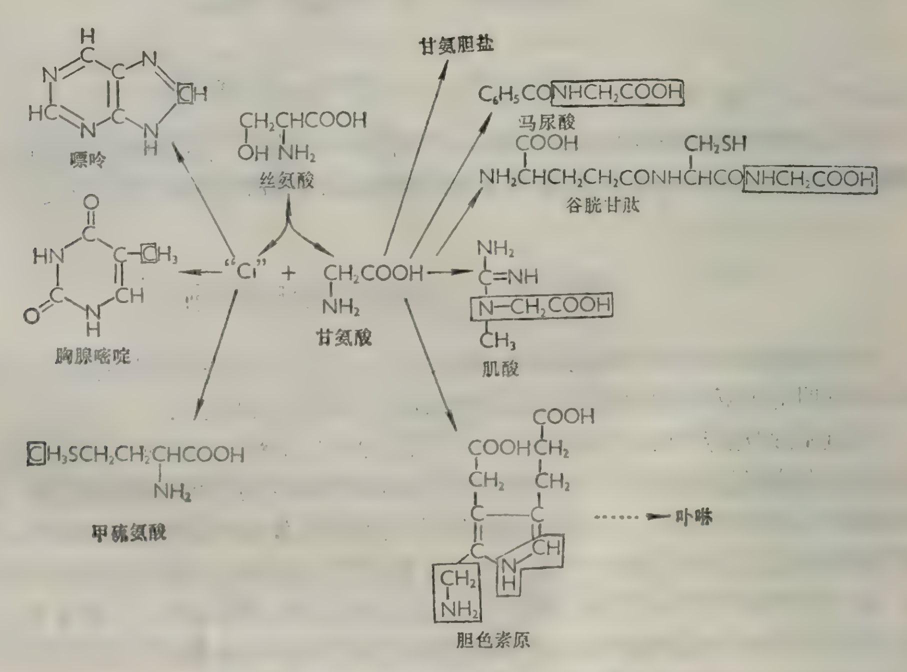


图 13-3 甘氨酸、丝氨酸和其他代谢物间的关系

甘氨酸和丝氨酸可以相互转化，丝氨酸转羟甲基酶和辅酶四氢叶酸(THFA)参与这个反应。

甘氨酸 + 羟甲基四氢叶酸 ⇌ 丝氨酸 + 四氢叶酸

羟甲基四氢叶酸也可以用四氢叶酸和甲酸作为原料而合成(图 13-4)。但这个反应对哺乳动物来讲并不十分重要,因为哺乳动物体内游离存在的甲酸不多。

此外甘氨酸还可以通过肝脏和肾脏内的甘氨酸氧化酶进行脱氨作用,生成乙醛酸,乙醛酸进一步氧化成为草酸,草酸又可脱羧生成甲酸。部分草酸从尿中排出体外,草酸过多可引起肾结石(草酸钙为肾结石中的一种成分)。

$$\underset{\text{甘氨酸}}{CH_2NH_2\text{—}COOH} \xrightarrow[-NH_3]{[O]} \underset{\text{乙醛酸}}{CHO\text{—}COOH} \longrightarrow \underset{\text{草酸}}{COOH\text{—}COOH} \longrightarrow \underset{\text{甲酸}}{HCOOH} + CO_2$$

动物体内从丝氨酸合成甘氨酸的事实是用同位素标记的技术证明的。用标记 ^{15}N 及 ^{13}C (羧基 C) 的丝氨酸引入动物，并同时引入苯甲酸，然后分离该动物排出的尿液中的马尿酸,发现在马尿酸分子内同时含有 ^{15}N 及 ^{13}C，而且两者之比也和它们在丝氨酸内的比例一样,马尿酸是由甘氨酸和苯甲酸结合而成,因此可以说明马尿酸内的甘氨酸部分是从丝氨酸来的。

$$\underset{\text{丝氨酸}}{CH_2OH\text{—}CH^{15}NH_2\text{—}{}^{13}COOH} + \underset{\text{苯甲酸}}{C_6H_5COOH} \longrightarrow \underset{\text{马尿酸}}{C_6H_5CO^{15}NHCH_2^{13}COOH}$$

丝氨酸是非必需氨基酸,除了可以从甘氨酸合成以外,还可以从葡萄糖分解代谢的中间产物 3-磷酸甘油酸生成。

$$\text{葡萄糖} \longrightarrow \underset{\text{3-磷酸甘油酸}}{CH_2O(P)\text{—}CHOH\text{—}COOH} \underset{NADH+H^+}{\overset{NAD^+}{\rightleftharpoons}} \underset{\text{3-磷酸羟基丙酮酸}}{CH_2O(P)\text{—}C{=}O\text{—}COOH} \overset{\text{转氨基作用}}{\rightleftharpoons} \underset{\text{o-磷酸丝氨酸}}{CH_2O(P)\text{—}CHNH_2\text{—}COOH} \xrightarrow{Pi} \underset{\text{丝氨酸}}{CH_2OH\text{—}CHNH_2\text{—}COOH}$$

四氢叶酸

HCOOH
ATP

甲酰四氢叶酸

$-H_2O$

N^5, N^{10}-脱水甲酰四氢叶酸
(N^5, N^{10}-甲川四氢叶酸)

$NADP^+$ NADPH

N^5, N^{10}-亚甲四氢叶酸

H_2O

羟甲基四氢叶酸

图 13-4　四氢叶酸及其衍生物之间的相互转化

丝氨酸除作为合成蛋白质的原料外，也是一种脑磷酯的组成成分，它的分解产物氨乙醇又是另一种脑磷酯的组成成分。

$$\underset{\text{丝氨酸}}{\begin{array}{l}CH_2OH\\|\\CHNH_2\\|\\COOH\end{array}} \longrightarrow \underset{\text{氨乙醇}}{\begin{array}{l}CH_2OH\\|\\CH_2NH_2\end{array}} + CO_2$$

丝氨酸通过丝氨酸脱水酶的作用，生成丙酮酸和 NH_3。

$$\underset{\text{丝氨酸}}{\begin{array}{l}CH_2OH\\|\\CHNH_2\\|\\COOH\end{array}} \xrightarrow{-H_2O} \left[\begin{array}{l}CH_2\\\|\\C-NH_2\\|\\COOH\end{array}\right] \longrightarrow \left[\begin{array}{l}CH_3\\|\\C=NH\\|\\COOH\end{array}\right] \xrightarrow{H_2O} \underset{\text{丙酮酸}}{\begin{array}{l}CH_3\\|\\C=O\\|\\COOH\end{array}} + NH_3$$

二、丙氨酸、天冬氨酸、谷氨酸

这三个氨基酸和糖代谢密切有关，都可以通过糖代谢的中间产物而合成。丙氨酸的分解代谢首先通过转氨基作用生成丙酮酸，丙酮酸进一步氧化脱羧，进入三羧酸循环而彻底分解。天冬氨酸和谷氨酸也都可以通过转氨基作用形成相应的酮酸，通过三羧酸循环而分解。在脑组织中谷氨酸还可以通过谷氨酸脱羧酶的作用生成 γ-氨基丁酸。在某些微生物中谷氨酸是合成精氨酸和脯氨酸的前体。

三、脯氨酸、羟脯氨酸、精氨酸

脯氨酸在不同的生物体内可以有不同的分解代谢途径。动物肝或肾内有 L-或 D-氨基酸氧化酶，可以催化 L-或 D-脯氨酸脱氢，产物为 Δ^1-吡咯啉-2-羧酸和 α-酮-δ-氨基戊酸的平衡混合物(途径 *a*)。动物肝和大肠杆菌的 L-脯氨酸氧化酶可以催化 L-脯氨酸脱氢，产物为 Δ^1-吡咯啉-5-羧酸和谷氨酸半醛的平衡混合物(途径 *b*)。

羟脯氨酸在动物体内分解的最终产物为丙酮酸和乙醛酸，中间过程如下：

羟脯氨酸 $\xrightarrow{-2H}$ Δ^1-吡咯啉-3-羟-5-羧酸 → γ-羟-谷氨酸半醛 → γ-羟谷氨酸 $\underset{}{\overset{转氨}{\rightleftharpoons}}$ α-酮-γ-羟戊二酸 ⇌ 丙酮酸 + 乙醛酸

(HO-吡咯烷环-COOH，N-H) → (HO-吡咯啉环-COOH) → CHO–CHOH–CH_2–$CHNH_2$–COOH → COOH–CHOH–CH_2–$CHNH_2$–COOH ⇌ COOH–CHOH–CH_2–C=O–COOH ⇌ CH_3–C=O–COOH + COOH–CHO

脯氨酸是非必需氨基酸，以谷氨酸为原料合成的。

$HOOCCH_2CH_2CH(NH_2)COOH$

谷氨酸

↓ ATP

Ⓟ$OOCCH_2CH_2CH(NH_2)COOH$

γ-谷氨酰磷酸

NADH ⇅ NAD^+

$OHCCH_2CH_2CH(NH_2)COOH$ ⇌ $NH_2CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)COOH$

谷氨酸半醛　　　　鸟氨酸

⇅ H_2O

H_2C——CH_2，HC=N，CHCOOH（五元环）

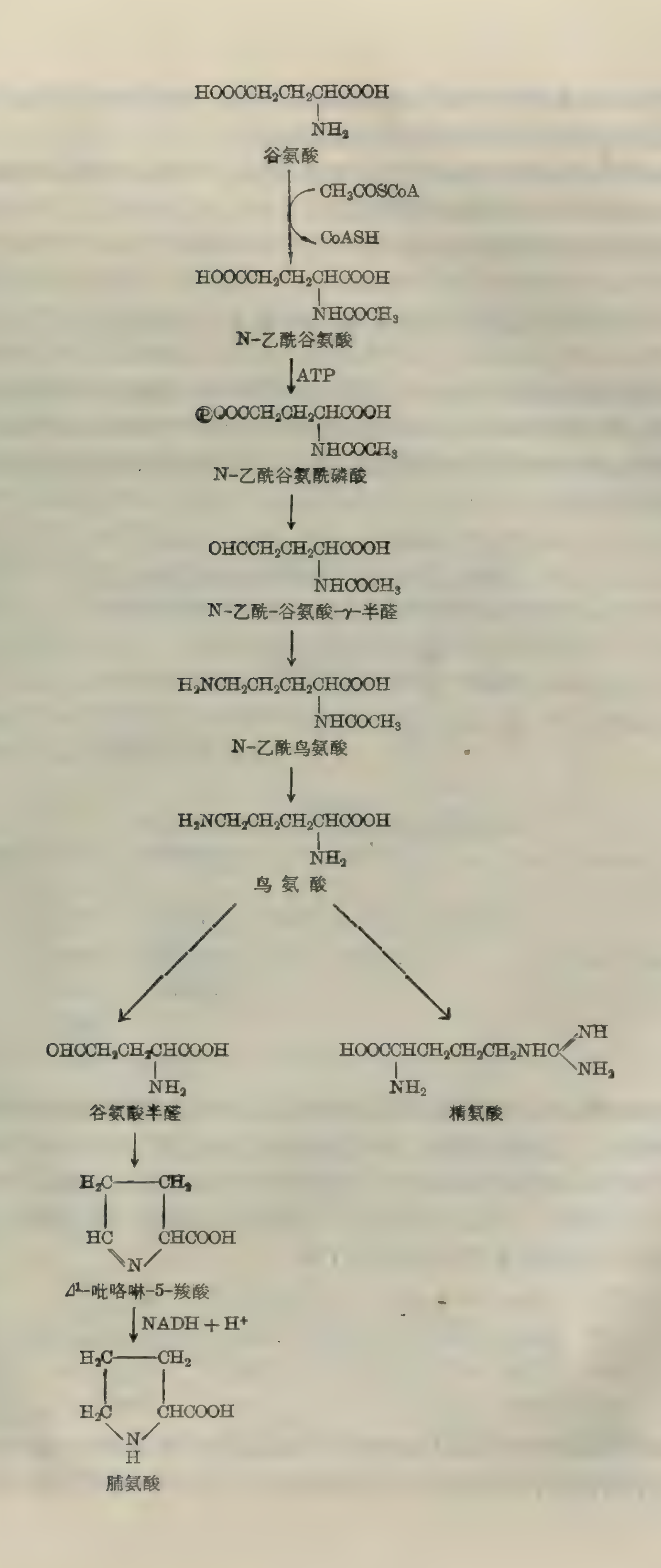
Δ^1-吡咯啉-5-羧酸

NADH ⇅ NAD^+

H_2C——CH_2，H_2C，CHCOOH，N-H（五元环）

脯氨酸

脯氨酸合成过程中的中间物谷氨酸半醛通过转氨基作用可以生成鸟氨酸。鸟氨酸不是组成蛋白质的氨基酸，但在尿素形成中起重要作用。在某些微生物例如大肠杆菌中，脯氨酸、鸟氨酸的合成不同于上述的过程，而是通过中间物 N-乙酰谷氨酸而完成的。


HOOCCH2CH2CHCOOH
NH2
谷氨酸
CH3COSCoA
CoASH
HOOCCH2CH2CHCOOH
NHCOCH3
N-乙酰谷氨酸
ATP
ⓟOOCCH2CH2CHCOOH
NHCOCH3
N-乙酰谷氨酰磷酸
OHCCH2CH2CHCOOH
NHCOCH3
N-乙酰-谷氨酸-γ-半醛
H2NCH2CH2CH2CHCOOH
NHCOCH3
N-乙酰鸟氨酸
H2NCH2CH2CH2CHCOOH
NH2
鸟 氨 酸
OHCCH2CH2CHCOOH
NH2
谷氨酸半醛
HOOCCHCH2CH2CH2NHC
NH
NH2
NH2
精氨酸
H2C CH2
HC CHCOOH
N
Δ1-吡咯啉-5-羧酸
NADH + H+
H2C CH2
H2C CHCOOH
N
H
脯氨酸

脯氨酸和羟脯氨酸主要存在于动物的胶原蛋白中。羟脯氨酸不是直接从脯氨酸羟化而成，而是在脯氨酸参入多肽以后再行羟化而成的。

精氨酸是排尿素动物的鸟氨酸循环的中间产物。从精氨酸形成的鸟氨酸并不全部参与循环，部分鸟氨酸转化为脯氨酸和谷氨酸。

在某些微生物内精氨酸是以谷氨酸为原料而合成的。

四、半胱氨酸、胱氨酸、甲硫氨酸

细胞里游离的胱氨酸是极少的。蛋白质分子内的胱氨酸是半胱氨酸参入多肽后，再经氧化而成的。蛋白质经酶水解后生成的胱氨酸通过还原作用生成半胱氨酸。

半胱氨酸分解的最后产物为无机的硫酸盐和丙酮酸，但通过不同的途径，可以先行氧化，也可以先行脱氨。

(1)

$$\underset{\text{半胱氨酸}}{HSCH_2CH(NH_2)COOH} \xrightarrow{[O]} \xrightarrow{[O]} \underset{\text{半胱氨酸亚磺酸}}{HO_2SCH_2CH(NH_2)COOH}$$

$$\downarrow$$

$$\underset{\beta\text{-亚磺酸丙酮酸}}{HO_2SCH_2C(=O)COOH} \xrightarrow{\text{脱亚硫酸酶}} SO_3^{=} + \underset{\text{丙酮酸}}{CH_3C(=O)COOH}$$

$$SO_3^{=} \rightarrow SO_4^{=}$$

(2)

$$HSCH_2CH(NH_2)COOH \underset{}{\overset{\text{转氨基作用}}{\rightleftharpoons}} \underset{\beta\text{-巯基丙酮酸}}{HSCH_2C(=O)COOH}$$

$$\downarrow$$

$$\underset{\text{丙酮酸}}{CH_3C(=O)COOH} + S$$

$$S \xrightarrow{2RSH} H_2S + RSSR$$

高等植物和许多微生物可以用无机的含硫化合物来合成半胱氨酸等含硫氨基酸，动物则没有这种能力。无机硫化物变为有机硫合物的详细过程还不甚清楚，只知道在高等植物和不少微生物中存在有需要磷酸吡哆醛为辅酶的半胱氨酸脱硫化氢酶，也许可能通过它的逆反应形成半胱氨酸。不过这个酶催化的反应虽然是可逆的，但主要倾向于分解为丙酮酸的方向，因此半胱氨酸究竟怎样合成还不了解。

$$\underset{\text{半胱氨酸}}{CH_2SH\text{-}CHNH_2\text{-}COOH} \underset{}{\overset{H_2S}{\rightleftharpoons}} [CH_2{=}C(NH_2)\text{-}COOH] \rightleftharpoons [CH_3\text{-}C{=}NH\text{-}COOH] \rightleftharpoons \underset{\text{丙酮酸}}{CH_3\text{-}C{=}O\text{-}COOH} + NH_3$$

在高等植物和微生物中，半胱氨酸除作为合成蛋白质的原料外，还为合成甲硫氨酸提供硫原子。在高等动物中情况恰恰相反，甲硫氨酸是一个必需氨基酸，动物从食物中获得的甲

硫氨酸除作为合成蛋白质的原料外，还为合成半胱氨酸和胱氨酸提供硫原子。

在糖代谢一章中，简单介绍了应用同位素标记法来研究糖代谢的中间过程，这种方法也同样可以用来探讨氨基酸代谢的中间过程。除此以外，氨基酸中间代谢过程还可以应用生化遗传学方法来研究。这里将用甲硫氨酸生物合成的例子来说明这个方法的应用。

大肠杆菌或链孢霉等微生物的野生型(野生型是指在自然界广泛存在的品系)可以在只含铵盐或硝酸盐等无机含氮物、葡萄糖和一些无机盐的培养基上很好地生长，因为它们可以利用葡萄糖作为能源及碳源把简单的含氮物质合成蛋白质、核酸、维生素等重要物质。如果把这种野生型的微生物用物理或化学因素处理(如紫外线、亚硝酸等)，就可以得到一些称为营养缺陷型的突变型。它们在上述的培养基上不能生长，但如果加入了某种氨基酸、维生素或碱基之后就可以生长。加入某一物质后可以生长的，就称为某物质缺陷型，例如加入甲硫氨酸可以生长的，就称为甲硫氨酸缺陷型。为什么这个菌株会变为甲硫氨酸缺陷型呢？这是由于甲硫氨酸合成过程中某一酶缺乏或损坏的结果，因为紫外线等因素已经改变了控制这个酶的 DNA 的结构。而 DNA 的结构是与蛋白质的结构密切相关的(详见第十五章)。紫外线等因素不但可以造成甲硫氨酸合成过程中某一个酶的缺损，也可以造成这个过程中任何一个酶的缺损，从而获得许多营养缺陷型。这些缺陷型都能依赖甲硫氨酸维持生长，但也并不一定需要甲硫氨酸本身，凡是能够作为甲硫氨酸前体的物质都能代替甲硫氨酸维持生长。由于某一酶的失活，还可以导致某些中间物的累积。根据各种突变型所表现的营养需要以及累积物的化学本质，就可以推测甲硫氨酸的合成过程。表 13-2 所载的是链孢霉的几株突变菌株的营养需要和累积物的情况。

表 13-2 链孢霉的几株甲硫氨酸缺陷型的特性

菌种	营养需要	累积物
86801	甲硫氨酸，或高半胱氨酸，或丙氨酸丁氨酸硫醚，或半胱氨酸	
9666	甲硫氨酸，或高半胱氨酸，或丙氨酸丁氨酸硫醚	高丝氨酸、苏氨酸
H 98	甲硫氨酸，或高半胱氨酸	丙氨酸丁氨酸硫醚
38706	甲硫氨酸	

从表 13-2 中所反映的情况，可以推测链孢霉中含硫氨基酸的合成过程以及和其他氨基酸之间的关系如下：

苏氨酸 $CH_3-CHOH-CHNH_2-COOH$ ← 高丝氨酸 $CH_2OH-CH_2-CHNH_2-COOH$

$\xrightarrow[86801]{(1)}$ 半胱氨酸 $CH_2SH-CHNH_2-COOH$

高丝氨酸 + 半胱氨酸 $\xrightarrow[9666]{(2)}$ 丙氨酸丁氨酸硫醚 $\begin{matrix} CH_2-S-CH_2 \\ CH_2 \quad\quad CHNH_2 \\ CHNH_2 \quad COOH \\ COOH \end{matrix}$ $\xrightarrow[H\,98]{(3)}$ 高半胱氨酸 $CH_2SH-CH_2-CHNH_2-COOH$ $\xrightarrow[38706]{(4)}$ 甲硫氨酸 $CH_2SCH_3-CH_2-CHNH_2-COOH$

上图中还表示了这四个突变菌株中究竟哪一个酶受到了损坏。38706 的酶 (4) 受到损坏; H 98 的酶(3)受到损坏; 9666 的酶(2)受到损坏; 86801 的酶(1)受到损坏。以 38706 菌株为例可以说明这情况: 用甲硫氨酸以前的几个中间物供给 38706, 都不能使它生长, 说明这些中间物都不能转变为甲硫氨酸,因此可以初步认为这个菌株的酶 (4) 受到损坏。余类推。

进一步的实验知道高丝氨酸先要转变为 O-琥珀酰高丝氨酸后再和半胱氨酸结合形成丙氨酸丁氨酸硫醚(简称丙丁硫醚):



甲硫氨酸除了作为合成蛋白质的原料外, 还为其他代谢物提供甲基。甲硫氨酸上的甲基转移到受体上的作用称为转甲基作用。积极起转甲基作用的不是甲硫氨酸本身, 而是甲硫氨酸的衍生物 S-腺苷甲硫氨酸。例如动物体内的肌酸上的甲基, 就是从 S-腺苷甲硫氨酸分子上得来的。S-腺苷甲硫氨酸失去甲基后,形成 S-腺苷高半胱氨酸, 后者再行分解为腺苷和高半胱氨酸。

$$\text{S-腺苷甲硫氨酸} + \underset{\text{胍基乙酸}}{NH{=}C(NH_2){-}NH{-}CH_2{-}COOH} \longrightarrow \text{S-腺苷高半胱氨酸} + \underset{\text{肌酸}}{NH{=}C(NH_2){-}N(CH_3){-}CH_2{-}COOH}$$

S-腺苷甲硫氨酸　　　　S-腺苷高半胱氨酸

除肌酸外，卵磷脂分子中的胆碱和肾上腺素上的甲基也都是由 S-腺苷甲硫氨酸所提供的。

对于动物，甲硫氨酸是一个必需氨基酸，因为动物不能合成 C_4 的高半胱氨酸。动物体内甲硫氨酸除作为合成蛋白质的原料以外，还为合成半胱氨酸提供硫原子。下式表示动物体内从甲硫氨酸合成半胱氨酸的过程，这个过程和微生物中从半胱氨酸为原料合成甲硫氨酸的逆过程类似，但参与的酶是不同的。

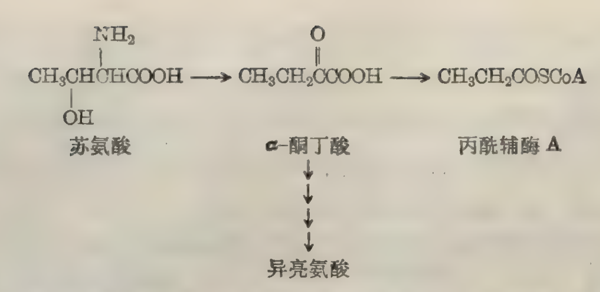
$$\underset{\text{甲硫氨酸}}{CH_2SCH_3{-}CH_2{-}CHNH_2{-}COOH} \longrightarrow \underset{\text{高半胱氨酸}}{CH_2SH{-}CH_2{-}CHNH_2{-}COOH}$$

$$\text{高半胱氨酸} + \underset{\text{丝氨酸}}{CH_2OH{-}CHNH_2{-}COOH} \xrightarrow{\text{丙丁硫醚}\beta\text{合成酶}} \underset{\text{丙丁硫醚}}{HOOC{-}CHNH_2{-}CH_2{-}CH_2{-}S{-}CH_2{-}CHNH_2{-}COOH}$$

$$\xrightarrow{\text{丙丁硫醚}\gamma\text{裂解酶}} \underset{\text{高丝氨酸}}{CH_2OH{-}CH_2{-}CHNH_2{-}COOH} + \underset{\text{半胱氨酸}}{CH_2SH{-}CHNH_2{-}COOH}$$

五、苏氨酸、赖氨酸

应用同位素示踪技术证明苏氨酸不参与转氨作用，苏氨酸上的氨基只能通过其他方式除去。苏氨酸脱氨酶催化苏氨酸形成 α-酮丁酸，这个反应需要磷酸吡哆醛作为辅酶，α-酮丁酸进一步氧化生成丙酰辅酶 A。在某些生物中 α-酮丁酸为合成异亮氨酸的前体。



此外动物肝脏、肾脏和某些微生物里还有苏氨酸醛缩酶，可催化下述反应：

$$\underset{\text{苏氨酸}}{\mathrm{CH_3CH(OH)CH(NH_2)COOH}} \rightleftharpoons \underset{\text{乙醛}}{\mathrm{CH_3CHO}} + \underset{\text{甘氨酸}}{\mathrm{NH_2CH_2COOH}}$$

产物甘氨酸可以转化为葡萄糖，乙醛可被氧化生成乙酰 CoA，后者可以形成酮体。但用苏氨酸饲喂动物并没有酮体形成。因此认为通过苏氨酸醛缩酶的分解代谢可能不是主要途径。在合成代谢上该酶也不起主要作用，因为苏氨酸对高等动物是必需氨基酸。

赖氨酸上的 α-氨基也象苏氨酸一样，不参与转氨作用。在各种生物中赖氨酸的分解代谢途径并不完全相同，下面表示在哺乳动物体内赖氨酸分解代谢的可能途径。

$$\underset{\text{赖氨酸}}{\mathrm{H_2NCH_2CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)COOH}} \longrightarrow \underset{\alpha\text{-酮-}\varepsilon\text{-氨基己酸}}{\mathrm{NH_2CH_2CH_2CH_2CH_2COCOOH}} \longrightarrow \Delta^1\text{-脱氢氮己环-2-羧酸} \longrightarrow$$

$$\text{氮己环-2-羧酸} \longrightarrow \Delta^6\text{-脱氢 氮己环-2-羧酸} \longrightarrow \underset{\alpha\text{-氨基-己二酸-}\delta\text{-半醛}}{\mathrm{OHCCH_2CH_2CH_2CH(NH_2)COOH}} \longrightarrow$$

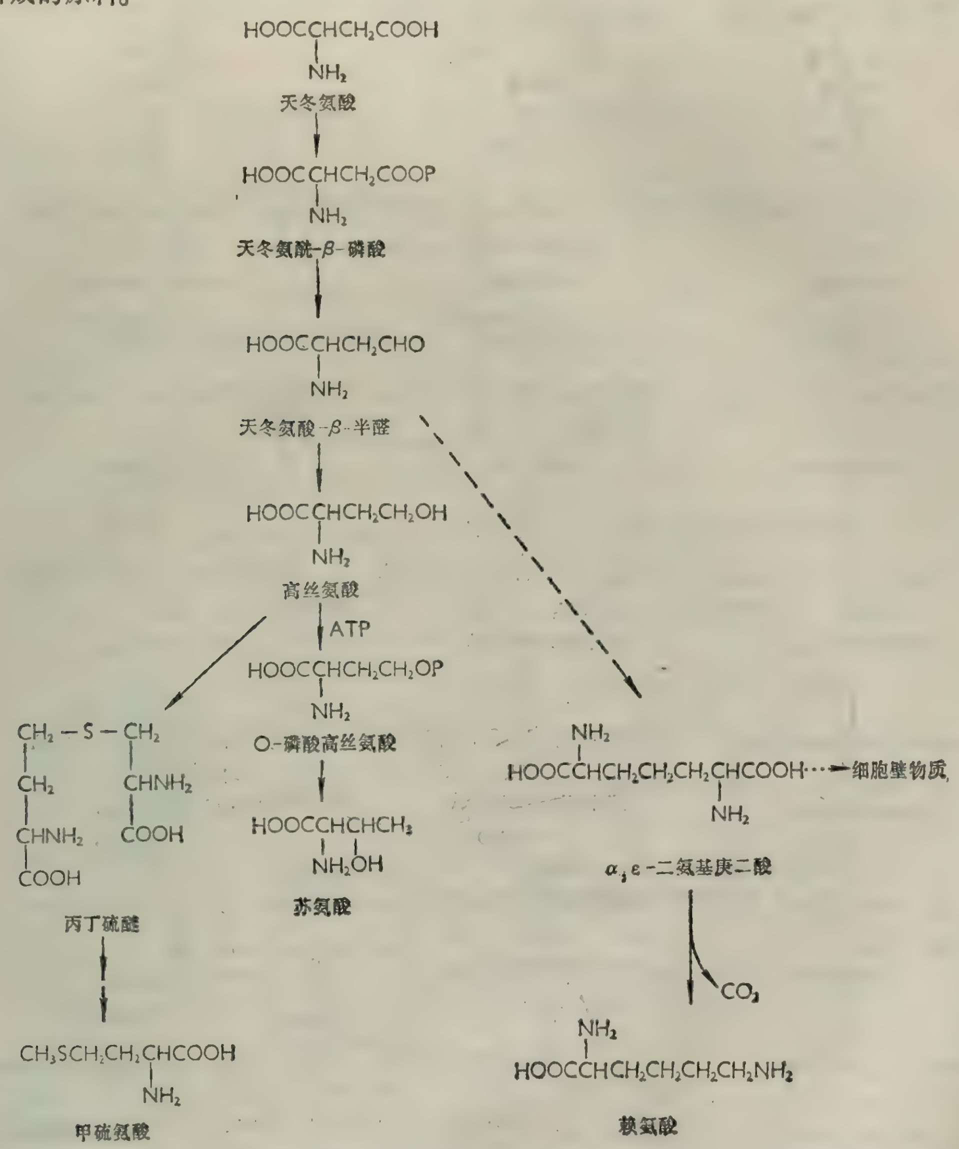
$$\underset{\alpha\text{-氨基己二酸}}{\mathrm{HOOCCH_2CH_2CH_2CH(NH_2)COOH}} \longrightarrow \underset{\alpha\text{-酮己二酸}}{\mathrm{HOOCCH_2CH_2CH_2COCOOH}} \xrightarrow[\mathrm{CO_2}]{\mathrm{NAD^+,\ CoASH}} \underset{\text{戊二酰 CoA}}{\mathrm{HOOCCH_2CH_2CH_2COSCoA}} \xrightarrow{-2H}$$

$$\underset{\text{戊二烯酰 CoA}}{\mathrm{HOOCCH_2CH{=}CHCOSCoA}} \xrightarrow{-\mathrm{CO_2}} \underset{\text{丁烯酰基 CoA}}{\mathrm{CH_3{-}CH{=}CHCOSCoA}} \xrightarrow[\mathrm{H_2O}]{\mathrm{NAD^+}} \underset{\beta\text{-酮丁酰 CoA}}{\mathrm{CH_3COCH_2COSCoA}} \longrightarrow \underset{\text{乙酰 CoA}}{\mathrm{2\,CH_3COSCoA}}$$

在大鼠肝线粒体内，赖氨酸的分解还可以通过中间物酵母氨酸直接转变为 α-氨基己二酸-δ-半醛，跳过了三个环状化合物（赖→酵母氨酸→α-氨基己二酸-α-半醛）。

$$\mathrm{HOOCCH(CH_2CH_2COOH)NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH(NH_2)COOH} \quad (\text{酵母氨酸})$$

苏氨酸和赖氨酸对于高等动物是必需氨基酸。在微生物中这两个氨基酸都以天冬氨酸作为合成的原料。



从天冬氨酸半醛到合成赖氨酸，其中还要历经 7 步反应，首先是天冬氨酸半醛与丙酮酸缩合成为 C_7 中间物，最后形成二氨基庚二酸，后者脱羧形成赖氨酸。在细菌中二氨基庚二酸是细胞壁物质胞壁酸的组成成分。这个途径也可称为二氨基庚二酸途径。在另外一些不需要二氨基庚二酸作为细胞壁物质的生物体内，赖氨酸可以由另外一条 α-氨基己二酸途径(以 α-氨基己二酸为中间物)而形成。

六、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸

这三个分枝氨基酸不论在分解或合成途径上都十分相似，分解途径见图 13-5。

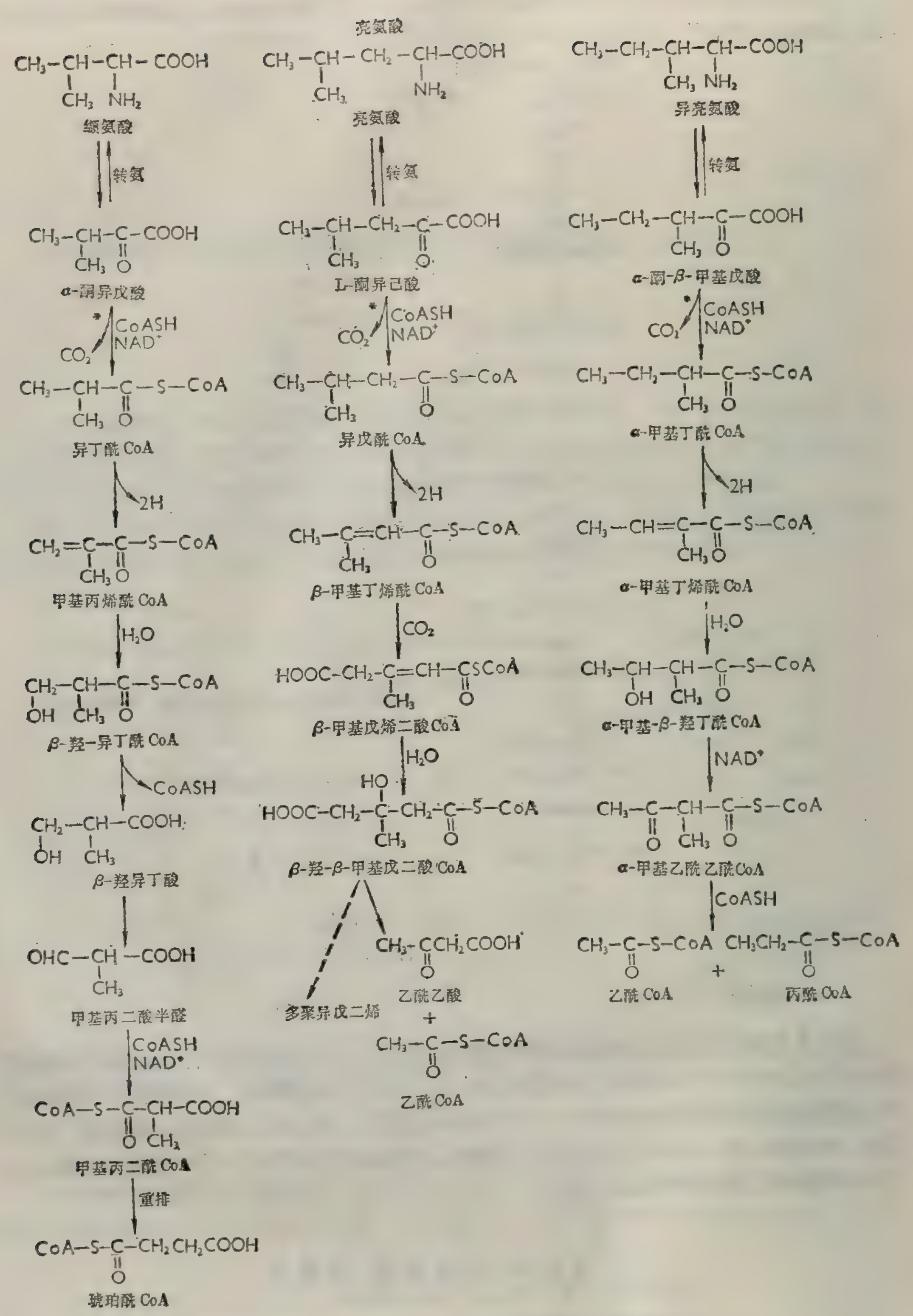


图 13-5 缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸的分解途径

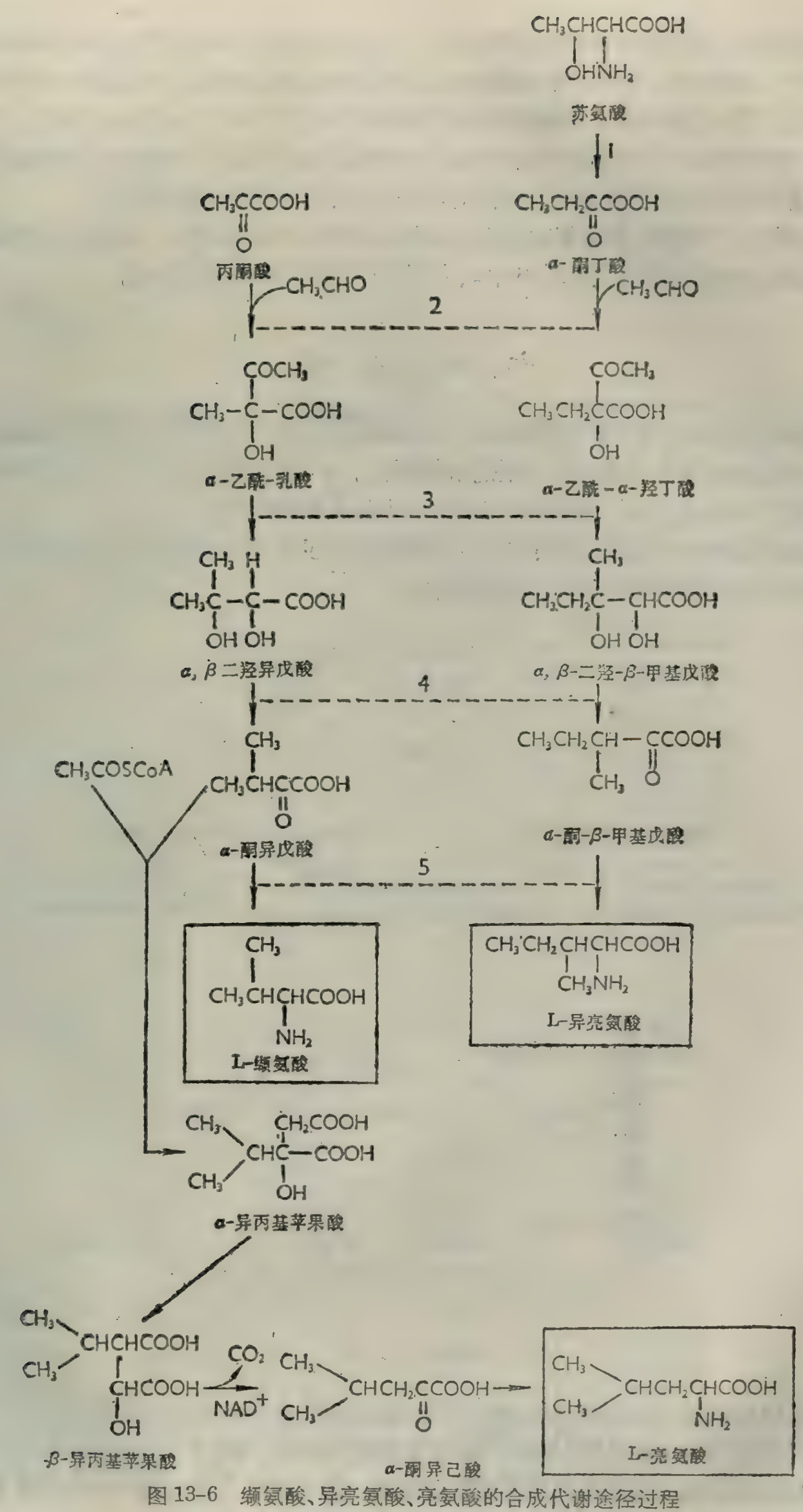


图 13-6　缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸的合成代谢途径过程

1. 苏氨酸脱氨酶　2. 合成酶　3. 还原异构酶　4. 脱水酶　5. 转氨酶

一种称为槭糖尿症的遗传性疾病就是这三个分枝氨基酸分解代谢发生障碍的结果。患者表现为智力发育不全，并在尿中出现与这三种分枝氨基酸相应的 α-酮酸和少量的三种氨基酸，这是由于患者体内的 α-酮酸脱羧酶(图 13-5 中注有 * 的反应)缺陷所致。这个现象说明同一种脱羧酶可以作用于三种不同的 α-酮酸，还说明这三个酮酸除了进行氧化脱羧作用之外，并没有其他的代谢途径，如果有其他途径的话，就不会累积起来。

在微生物中，缬氨酸、异亮氨酸和亮氨酸的合成过程也非常相似，他们的中间物都属同系物，许多酶也都是共同的。图 13-6 中 2、3、4、5 等酶都具有双重作用。

七、组　氨　酸

组氨酸作为蛋白质的一种组成成分，有它独特的作用，组氨酸往往是许多酶的活力中心内的一个氨基酸(例如糜蛋白酶、核糖核酸酶等)。组氨酸的咪唑环可以和金属络合，例如含铁卟啉蛋白(如血红蛋白)中的铁就和蛋白质中的组氨酸络合。

组氨酸经脱羧酶作用能生成具有一定药理作用的组胺(降血压和产生过敏反应)。组氨酸还可以通过其他途径降解，最后形成谷氨酸。

HC═C—CH₂—CH—COOH (组氨酸) → 组胺；→ 咪唑丙烯酸 → 咪唑酮丙酸 → N-亚胺甲基谷氨酸 → HOOCCHCH₂CH₂COOH(NH₂) + NH_3 + "C_1"

组氨酸

组胺

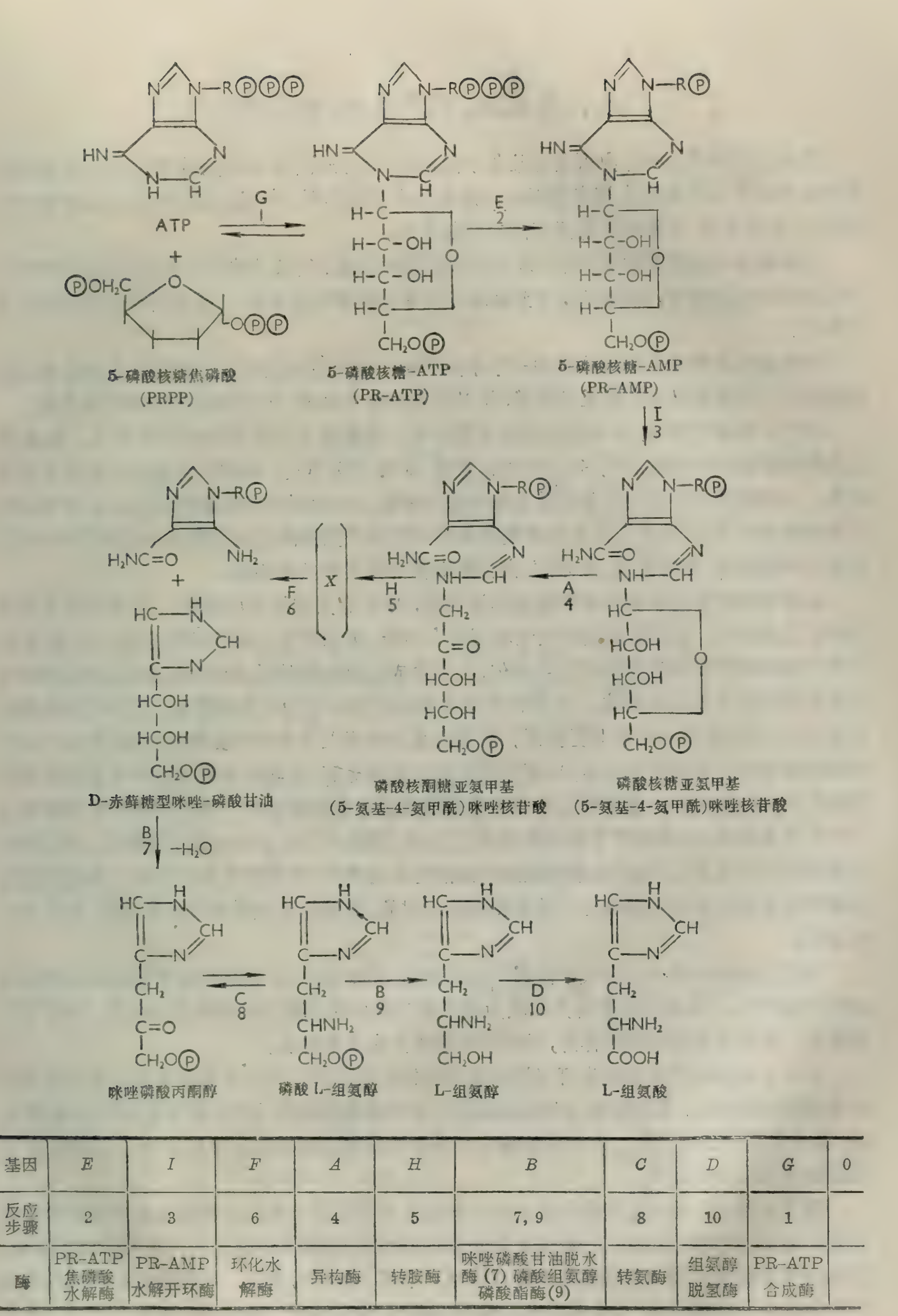
咪唑丙烯酸

咪唑酮丙酸

N-亚胺甲基谷氨酸

谷氨酸

应用了同位素技术、突变型以及酶的研究，组氨酸的合成过程在链孢霉和大肠杆菌等微生物中已经基本阐明。以 ATP 和磷酸核糖焦磷酸为原料，通过十步反应，形成组氨酸。催化这十步反应的酶也都已经达到不同程度的纯度。其中反应 7 和 9 为同一酶所催化。合成过程如图 13-7 所示。



基因	*E*	*I*	*F*	*A*	*H*	*B*	*C*	*D*	*G*	0
反应步骤	2	3	6	4	5	7, 9	8	10	1	
酶	PR-ATP 焦磷酸水解酶	PR-AMP 水解开环酶	环化水解酶	异构酶	转胺酶	咪唑磷酸甘油脱水酶 (7) 磷酸组氨醇磷酸酯酶(9)	转氨酶	组氨醇脱氢酶	PR-ATP 合成酶	

图 13-7　鼠伤寒沙门氏菌的组氨酸生物合成途径

八、色氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸

色氨酸在哺乳动物体内可通过几条不同途径进行分解(图13-8)。色氨酸经过羟基化作用和脱羧作用后形成的5-羟色胺对于外周血管有收缩作用，5-羟色氨以结合状态存在于脑组织中，含量较多，可能对神经系统的控制起作用。

色氨酸通过脱氨或脱羧作用，最后可形成吲哚乙酸，吲哚乙酸是一种植物生长刺激素。不论在植物或动物中，吲哚乙酸主要是通过吲哚丙酮酸而形成的。动物所产生的吲哚从尿中排出。

维生素烟碱酸是色氨酸分解的一个中间产物，因此色氨酸可以补充膳食中维生素烟碱酸的不足。玉蜀黍蛋白中缺乏色氨酸，如以玉蜀黍为主粮时，有可能造成烟碱酸缺乏症。

对于人和动物来说，苯丙氨酸是必需氨基酸。酪氨酸是从苯丙氨酸转变来的。酪氨酸又经酪氨酸酶的作用生成3, 4-二羟苯丙氨酸(简称DOPA)。DOPA再继续被氧化生成黑色素。人体皮肤或头发的色素都是从酪氨酸变来的。苯丙氨酸和酪氨酸的代谢正常与否和人的健康密切有关。不少先天性代谢疾病是由于这两个氨基酸代谢过程发生了障碍的缘故。例如苯丙酮尿症、酪氨酸症、黑尿症、白化症等都是先天性代谢疾病。

苯丙酮尿症患者血液中苯丙氨酸的浓度高，尿中有大量的苯丙酮酸。患者的智力大都停留在儿童阶段，患者的肤发颜色也较正常人为浅，血液中肾上腺素浓度也低。这都是由于苯丙氨酸羟化酶的活力低或甚至缺失，于是生成的酪氨酸的量也相应减少，而酪氨酸是合成黑色素和肾上腺素的前体。用苯丙氨酸含量低的蛋白作为患者的膳食，可以改进患者的智力，不过必须在婴儿时期即行控制。如果能直接给病人补充苯丙氨酸羟化酶，效果一定比控制膳食为好。但酶是蛋白质，口服要遭到蛋白酶的分解，静脉注射则又因外来蛋白质要引起病人产生过敏反应，曾经有人将天冬酰胺酶包藏在微型胶囊中，然后将这种微型胶囊注射到小鼠血液内，用来治疗小鼠的白血病。这样，酶蛋白可以不和体液直接接触，但底物和反应物可以自由进出，而且包藏在胶囊内的酶也不易失活，可以使用较长时间。在还不能用遗传学的办法从根本上解决先天性遗传疾病的时候，如能仿照这样的方法来治疗，也是值得考虑的。

黑尿症患者的尿液在空气中停留一定时间后，便变成黑色，这是因为黑尿酸是酪氨酸分解的中间产物。患者体内分解黑尿酸为顺丁烯二酸单酰乙酰乙酸的酶活力减弱，便有黑尿酸累积。黑尿酸从尿中排出体外，受到空气氧化生成黑色物质。

从以上这些人类代谢疾病可以推测氨基酸的代谢过程。例如黑尿症患者不吃含有芳香族氨基酸的膳食时，尿中就没有黑尿酸排出。将黑尿酸给正常人吃，尿中也并不出现黑尿酸，说明黑尿酸已被代谢。因此认为黑尿酸是芳香族氨基酸代谢的中间产物。用同位素技术已经得到充分的证明。

除了这两个芳香族氨基酸与先天性代谢疾病有关之外，其他几种氨基酸也和先天性代谢疾病有关，例如胱氨酸尿症、精氨琥珀酸血症(血液内精氨琥珀酸过多)、组氨酸血症等等。这些疾病都是由于有关氨基酸的分解代谢过程中某一酶活力丧失，导致该氨基酸或其中间产物在体内的浓度增高，从尿中排出。图13-9表示苯丙氨酸和酪氨酸分解代谢过程以及几种先天性代谢病的障碍所在。

吲哚丙酮酸

色氨酸

色氨酸2, 3-加氧酶

5-羟色氨酸

吲哚乙酸

N-甲酰犬尿氨酸

5-羟色胺

色胺

犬尿氨酸酶

犬尿氨酸

犬尿氨酸羟化酶

邻-氨基苯甲酸 + 丙氨酸

犬尿喹啉酸

3-羟犬尿氨酸

黄尿酸

间-羟基-邻-氨基苯甲酸

喹啉-2-羧酸

8-羟-喹啉-2-羧酸

邻-氨基酚

α-氨基-β-羧粘康酸-δ-半醛

α-羧-吡啶

α-氨基粘康酸 δ-半醛

吡啶-2, 3-二羧酸

PRPP

CO_2

PPi

α-酮-己二酸

α-氨基-粘康酸

烟酸核苷酸

NAD

$HOOCCH_2CH_2CH_2COSCoA$

戊二酰辅酶A

$2CH_3COSCoA + CO_2$

乙酰辅酶A

图 13-8 色氨酸的分解代谢途径

苯丙氨酸 酪氨酸 3，4-二羟苯丙氨酸（DOPA） 多巴醌 黑色素

苯乳酸 苯丙酮酸 对-羟苯丙酮酸 3，4-二羟苯乙胺

苯乙酸 2,5-二羟苯丙酮酸 去甲肾上腺素

黑色物质 黑尿酸 肾上腺素

顺丁烯二酸单酰乙酰乙酸

反丁烯二酸单酰乙酰乙酸

反丁烯二酸 乙酰乙酸

图 13-9 苯丙氨酸和酪氨酸的分解代谢过程

1．苯丙酮尿症（苯丙氨酸羟化酶缺陷） 2．酪氨酸血症 II（酪氨酸转氨酶缺陷） 3．酪氨酸血症 I（对-羟苯丙酮酸羟化酶缺陷） 4．黑尿症（黑尿酸氧化酶缺陷） 5．白化症（酪氨酸酶缺陷）

磷酸烯醇丙酮酸

4-磷酸赤藓丁糖

3-脱氧-2-酮-D-阿拉伯糖型
庚酮糖酸-7-磷酸

莽草酸

分枝酸

5-磷酸核糖焦磷酸

邻-氨基苯甲酸

预苯酸

N-(5'-磷酸核糖)邻氨基苯甲酸

苯丙酮酸

对-羟苯丙酮酸

1-(邻-羧苯氨)-1-脱氧核酮糖-5'-磷酸

苯丙氨酸

酪氨酸

吲哚-3-甘油磷酸

1

丝氨酸

3

3-磷酸甘油醛

吲哚

色氨酸

2

丝氨酸

图 13-10　微生物中色氨酸、苯丙氨酸和酪氨酸的合成过程

在微生物中这三个氨基酸的合成途径是密切有关的(图 13-10)。从分枝酸所生成的预苯酸和邻-氨基苯甲酸分别形成苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸。邻-氨基苯甲酸和 5-磷酸核糖焦磷酸作用，经几步反应后生成色氨酸。用微生物发酵法生产色氨酸时，在培养基内加入少量的邻-氨基苯甲酸，可以提高色氨酸的产量。

催化色氨酸合成的最后一步的酶称为色氨酸合成酶。大肠杆菌中的色氨酸合成酶是由 α 和 β 两种多肽组成(完整的酶蛋白为 $\alpha_2\beta_2$)。它们可以分别催化三个不同的反应。α 蛋白催化反应 (1)；β 蛋白催化反应 (2)；反应 (3) 则必须 α 和 β 同时存在方能进行，因此也有人认为可能反应(3)是通过反应(1)和反应(2)而进行的。

图 13-11 概括了氨基酸代谢与糖代谢之间的相互关系。

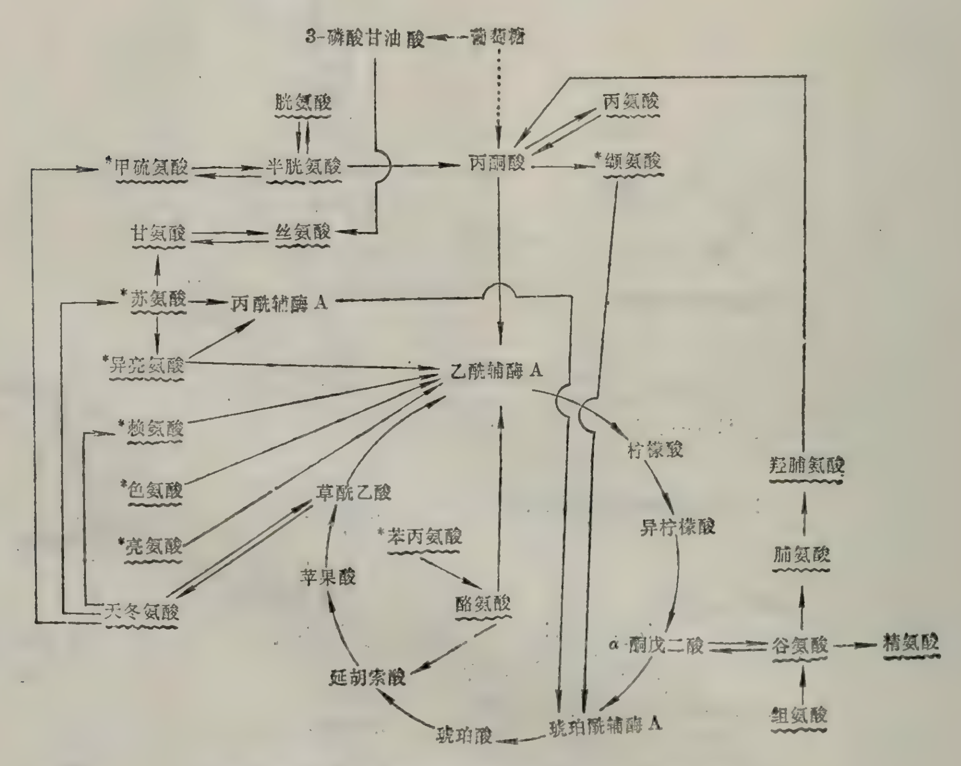


图 13-11 氨基酸代谢与糖代谢之间的相互关系简图
(* 为必需氨基酸)

第十四章　核酸代谢

第一节　核酸的分解代谢

一、多核苷酸、单核苷酸、核苷的分解

核酸在生物体内进行分解时，受到核酸酶、核苷酸酶、核苷酶等作用，逐步分解，最后生成碱基、戊糖和磷酸。碱基又受到酶的作用分解为最终含氮物如 NH_3、尿素、尿囊素、尿囊酸、尿酸等排泄到体外。核糖参加磷酸戊糖途径进行代谢。

分解多核苷酸的酶很多，它们的专一性也很不相同。内切核酸酶可以从中间切断多核苷酸，外切核酸酶可以将多核苷酸从末端逐个切下单核苷酸，其中有些从 3′-OH 端向 5′-P 端逐个切下，有些则从 5′-P 端向 3′-OH 端逐个切下。核酸酶分解核苷酸键时，根据酶的专一性，可以形成两种产物：一种是将磷酸基团留在 5′ 位上，另一种则是将磷酸基团留在 3′ 位上。

胰脏核糖核酸酶 (RNaseA) 是一种高度专一性的内切核酸酶，作用于嘧啶核苷酸的 C-3′ 上的磷酸根和邻接核苷酸的 C-5′ 之间的键，是一种磷酸二酯酶，产物为 3′-嘧啶单核苷酸和以 3′-嘧啶核苷酸结尾的嘌呤低聚核苷酸。作用方式如下图所示，箭头表示作用点。

嘌　嘧　嘧　嘌　嘌

3′　3′　3′　3′　3′

……P　P　P　P　P　P……

5′　5′　5′　5′

蛇的毒液中有一种分解磷酸二酯的酶，称为蛇毒(磷酸)二酯酶。蛇毒二酯酶是一种外切核酸酶，可以将 RNA (或低聚的 DNA) 从 3′-OH 端开始逐个切下 5′-单核苷酸(或 5′-脱氧单核苷酸)。桔青霉中也有这种性质的二酯酶。由于它们作用的产物是 5′-单核苷酸，所以也称为 5′-磷酸二酯酶。桔青霉比蛇毒容易得到，因此在生产上采用桔青霉作为 5′-磷酸二酯酶的来源，用于水解 RNA 和低聚的 DNA，生产 5′-单核苷酸和 5′-脱氧单核苷酸。

分解 DNA 的酶有 DNA 酶 I 和 DNA 酶 II 等。DNA 酶 I 存在于胰脏中，作用于磷酸二酯键，产物是以 5′-磷酸为末端的低聚脱氧核苷酸。DNA 酶 II 存在于脾和胸腺中，作用于磷酸二酯键，产物是以 3′-磷酸为末端的低聚脱氧核苷酸。

哺乳动物胰脏内有核糖核酸酶和脱氧核糖核酸酶，说明动物对食物中的核酸成分可能是通过这两种酶进行消化的。但也有人认为 RNA 酶在哺乳动物的胰脏中含量少，对消化所起的作用不能过高估计。

P P P P P P P P P P P P

↓DNA 酶 I

P —OH P P P P —OH P P P P —OH P P

P P P P P P P P P P P P

↓DNA 酶 II

P P P HO P P P P P P HO P P

限制酶是近年来在大肠杆菌、嗜血流感杆菌等细菌中发现的一类内切核酸酶。当外源 DNA（如噬菌体）侵入细菌后，限制酶可以把它切成片段，外源 DNA 就不能在细菌细胞中进行复制，即细菌限制了外源 DNA，对细菌本身起了保护作用，因此这种酶被称为限制内切核酸酶或简称限制酶。

细菌除具有限制酶外，还具有一种对 DNA 起修饰作用的修饰甲基化酶。修饰甲基化酶和限制酶对底物 DNA 作用的部位是相同的。修饰甲基化酶使该部位上的碱基进行甲基化作用，从而使限制酶对这种结构修饰过的 DNA 不再起作用。由于细菌本身的 DNA 已被修饰过，因此不会被自己的限制酶所破坏。

各种来源的限制酶的专一性各不相同，它们对底物 DNA 各有特异的识别部位（或称识别顺序）。例如大肠杆菌的一种限制酶 EcoRI 对 DNA 的识别顺序为（箭头表示酶的作用点）：

5′···pG|pApAp|TpTpCp···3′

3′···pCpTpTp|ApAp|Gp···5′

又如嗜血流感杆菌中的一种限制酶 HindIII 对 DNA 的识别顺序为：

5′···pA|pApGp|CpTpTp···3′

3′···pTpTpCp|GpAp|Ap···5′

从以上两个例子可以看出这两种限制酶的识别顺序都有一个共同特点，以图中实线为对称轴时这一段双链 DNA 的碱基顺序具有旋转对称性。由于 DNA 分子上的识别顺序可以不止在一处出现，所以限制酶作用于 DNA 时也可以不止造成一个切口。例如限制酶 EcoRI 对 λ 噬菌体可以造成 5 个切口，对一种病毒 SV40 只造成一个切口。又如限制酶 HindIII 对 λ 噬菌体造成 6 个切口，对 SV40 也造成 6 个切口。

环状或线状的双链 DNA 分子经限制酶作用后都形成线状双链 DNA，每条单链的一端带有识别顺序中几个互补碱基，这样的末端称为粘性末端。具有互补的粘性末端的两种双链 DNA 片段放在一起时，通过氢键可以靠拢，在 DNA 连接酶的作用下，这两个 DNA 片段便以共价键连接成为一个杂合的 DNA 分子，也称为重组 DNA。

限制酶的发现大大地促进了遗传工程的研究。遗传工程是应用遗传学和生物化学的原理和方法，将异源的 DNA 和能够自我复制的 DNA 载体（如 λ 噬菌体、大肠杆菌素因子等）连接起来，通过细菌转化的方

法或其他方式，输入到细菌细胞或其他生物的细胞中去，使受体细胞表现出新获得的性状(即异源 DNA 上所携带的性状)并遗传下去。因此遗传工程的远景是克服远缘杂交的障碍而为育种开辟新途径。

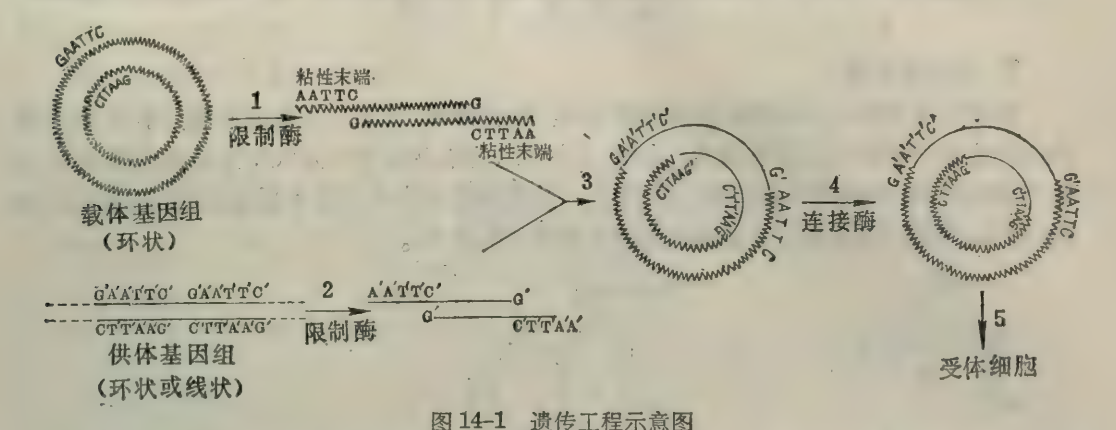


图 14-1　遗传工程示意图

应用了遗传工程的技术，已经成功地将大肠杆菌的特定基因输入到不具该基因的大肠杆菌细胞内，并且表达出这个外来基因的功能。此外，动物基因转移到细菌中也已经有了成功的例子，例如果蝇的染色体片段以及爪蟾的核糖体基因都曾被输入细菌。

遗传工程目前虽然还停留在理论研究上，发展下去很有可能解决具有重大实际意义的课题。例如高等植物都不能固氮，如能将具有固氮作用的微生物中的固氮基因输入到高等植物中去，可以节约氮肥，大大促进农业生产。又如胰岛素目前仍靠从动物脏器中提取，得率不高，难于满足临床需要，如能将动物的胰岛素基因输入到细菌细胞内，就可以通过发酵法大量生产了。这些课题国内外都正在从事研究。

1977 年有人报道，通过逆转录酶的作用可以将大鼠的胰岛素前体的 mRNA 逆转录为 cDNA，cDNA 可被插入到细菌的质粒 DNA 中，形成重组 DNA，当这种重组 DNA 被引入大肠杆菌后，可以进行复制，但是胰岛素的性状还不能表达。同年又有人报道将十四肽的生长激素释放抑制因子(Somatostatin)的人工合成基因与质粒 DNA 制成重组 DNA 引入大肠杆菌，这种大肠杆菌能够产生生长激素释放抑制因子。1978 年已有人报道将大鼠胰岛素基因输入大肠杆菌已获得表达，细菌分泌出前胰岛素，将此前体加以处理便可得到具有活性的胰岛素。

核酸的分解产物单核苷酸可被核苷酸酶继续分解为核苷及磷酸：

$$\text{核苷酸} \xrightarrow[H_2O]{\text{核苷酸酶}} \text{核苷} + H_3PO_4$$

$$\text{核苷} \xrightarrow[H_2O]{\text{核苷酶}} \text{核糖} + \text{碱基}$$

$$\text{核苷} \xrightarrow[H_3PO_4]{\text{核苷磷酸解酶}} \text{1-磷酸核糖} + \text{碱基}$$

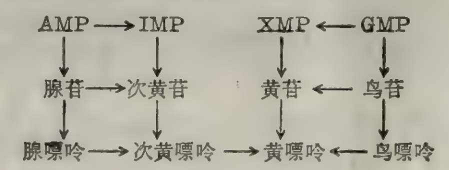
二、碱基的分解

1. 嘌呤的分解

腺嘌呤和鸟嘌呤在动物体内分解的最终产物为尿酸、尿素或其他含氮物。不同种类的动物中最终产物的形式各不相同。人类、灵长类、鸟类、爬虫类以及大多数昆虫中嘌呤的最终产物为尿酸；其他哺乳动物则为尿囊素。某些硬骨鱼中则尿囊素再继续进行分解为尿囊酸；大多数鱼类、两栖类中尿囊酸再分解为尿素(图 14-2)。

图 14-2　腺嘌呤和鸟嘌呤的分解代谢过程

此外嘌呤的分解还可在核苷或核苷酸的水平上进行：



2. 嘧啶的分解

嘧啶也和嘌呤一样，在生物体内进一步分解为更简单的含氮化合物。在动物体内嘧啶通过还原作用进行分解，在微生物体内也可以通过氧化作用进行分解。

(1) 通过还原作用分解过程如下：

胞嘧啶 $\xrightarrow[NH_3]{H_2O}$ 尿嘧啶 $\underset{NADP^+}{\overset{NADPH}{\rightleftharpoons}}$ 二氢尿嘧啶 $\longrightarrow$ $H_2N-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NHCH_2CH_2COOH$（β-脲基丙酸）$\xrightarrow{H_2O}$ $NH_3+CO_2+NH_2CH_2CH_2COOH$（β-丙氨酸）

胸腺嘧啶 $\underset{NADP^+}{\overset{NADPH}{\rightleftharpoons}}$ 二氢胸腺嘧啶 $\xrightarrow{H_2O}$ $H_2N-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-NHCH_2\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}HCOOH$（β-脲基异丁酸）$\xrightarrow{H_2O}$ $NH_3+CO_2+NH_2CH_2\overset{CH_3}{\overset{|}{C}}HCOOH$（α-甲基-β-氨基丙酸）

(2) 通过氧化作用分解过程如下：

尿嘧啶 $\xrightarrow{\text{尿嘧啶氧化酶}}$ 巴比妥酸 $\xrightarrow{\text{巴比妥酸酶}}$ 尿素 $(NH_2-CO-NH_2)$ + 丙二酸 $(HOOC-CH_2-COOH)$

第二节 核酸的合成代谢

生物体内大分子的核酸是以单核苷酸作为原料聚合而成的。因此生物必须先合成单核苷酸。单核苷酸的合成可以通过两条完全不相同的途径进行：(1)从食物中取得的完整的嘌呤或嘧啶和戊糖、磷酸，通过酶的作用直接合成单核苷酸。(2)由磷酸戊糖先和尚未完成的嘌呤或嘧啶环结合，在这未完成的环上逐渐加上必要的部分，然后闭合成环。由于碱基不是现成的，所以途径(2)也称为"从无到有"途径，当这条途径受到障碍时，则可通过途径(1)来合成，因此途径(1)也可称为补救途径。

一、嘌呤核苷酸的合成

1. "从无到有"途径

用同位素标记化合物和鸽肝匀浆一起培养，分析次黄嘌呤分子上同位素的位置，可以知

道嘌呤环上各个元素的来源，如下所示：

CO_2 甘氨酸 天冬氨酸 "甲酸" "甲酸" 谷氨酰胺（酰胺N） 谷氨酰胺（酰胺N）

但是次黄嘌呤并不是一个初级产物，而是从次黄嘌呤核苷酸分解出来的。通过分离纯化各种酶以及鉴定中间产物的研究，提出了次黄嘌呤核苷酸"从无到有"的生物合成途径，并证明次黄嘌呤核苷酸是腺嘌呤核苷酸和鸟嘌呤核苷酸的前体。图 14-3 表示从磷酸核糖开始，和谷氨酰胺、甘氨酸、CO_2、天冬氨酸等代谢物逐步结合，最后将环闭合起来形成次黄嘌呤核苷酸(IMP)的过程，以及从 IMP 转化为 AMP 及 GMP 的过程。

嘌呤核苷酸生物合成过程的阐明对于生产实践具有重要的意义。在了解核苷酸合成途径的基础上，人们可以设计有效的治癌药物，可以指导有关核苷酸生产的菌种选育等。癌细胞内核酸的合成作用要比正常细胞旺盛得多，如果适当地抑制核酸合成，就有可能抑制癌细胞的增生。核苷酸合成过程中任何一步反应被抑制，都有可能影响核酸的合成。

甲基氨基蝶呤和辅酶四氢叶酸的结构很相象，它对于嘌呤核苷酸合成过程中第(4)、(10)两反应有干扰作用，由于甲基氨基蝶呤对于这两个反应中的酶起了竞争性抑制作用，使反应速度减慢或甚至停止。所以甲基氨基蝶呤有可能作为治癌药物，实验证明它对于小白鼠的移植白血病确有较好的疗效。目前甲基氨基蝶呤在临床上已用来治疗各种急性白血病、绒毛膜上皮细胞癌、恶性葡萄胎等。

四氢叶酸：R_1=OH，R_2=H

甲基氨基蝶呤：R_1=NH_2，R_2=CH_3

此外如氮丝氨酸 ($\overset{-}{N}=\overset{+}{N}=CHCOOCH_2\underset{}{\overset{NH_2}{|}}{C}HCOOH$) 也曾被考虑作为治癌的药物，氮丝氨酸的结构和谷氨酰胺相似，对嘌呤核苷酸合成过程中(2)、(5)有干扰作用，从而抑制核酸的合成。

肌苷酸（即次黄嘌呤核苷酸）是一种高效的助鲜剂。肌苷酸既然是生物合成嘌呤核苷酸的一个中间产物，因此就可以考虑用微生物发酵法来制备，但是在正常状态的微生物中，中间产物是不会累积得很多的。如果使形成肌苷酸以后几步中的酶失去活力，就可以使肌苷酸累积起来。用物理或化学方法诱发微生物突变可以获得累积肌苷酸较多的突变种。但

α-D-核糖-5-P (PR)　α-D-核糖焦磷酸-5-P (PRPP)　β-D-核糖胺-5-P (PRA)

5-氨基咪唑核苷酸 (AIR)　甲酰甘氨脒核苷酸 (F-GAMR)　甲酰甘氨酰胺核苷酸 (F-GAR)　甘氨酰胺核苷酸 (GAR)

5-氨基-4-甲酸咪唑核苷酸(CAIR)　5-氨基-4-氨甲酰(N-琥珀基)咪唑核苷酸(SAICAR)　5-氨基-4-氨甲酰咪唑核苷酸(AICAR)

黄嘌呤核苷酸 (XMP)　次黄嘌呤核苷酸 (IMP)　5-甲酰胺-4-氨甲酰咪唑核苷酸 (F-AICAR)

鸟嘌呤核苷酸 (GMP)　腺嘌呤核苷酸琥珀酸 (SAMP)　腺嘌呤核苷酸 (AMP)

图 14-3　嘌呤核苷酸生物合成过程(从无到有)

1. 5-磷酸核糖焦磷酸激酶　2. PRPP转胺酶　3. GAR合成酶　4. GAR转甲酰酶　5. 甲酰-GAR转胺酶　6. AIR合成酶　7. AIR羧化酶　8. SAICAR合成酶　9. 腺嘌呤核苷酸琥珀酸分解酶(同反应13)　10. AICAR甲酰转移酶　11. IMP环化脱水酶　12. SAMP合成酶　13. 同反应9　14. IMP脱氢酶　15. XMP转胺酶

是这种菌种由于不能合成腺嘌呤核苷酸或鸟嘌呤核苷酸，所以不能存活，因此必须在培养基中供给它腺嘌呤或鸟嘌呤，就可以通过另外一条途径，也即是"补救途径"，从已经形成的嘌呤环来合成核苷酸。

2. 补救途径

从完整的嘌呤合成核苷酸可以通过腺嘌呤磷酸核糖转移酶(APRT)一步合成：

$$\text{腺嘌呤}+\text{5-磷酸核糖焦磷酸}\xrightarrow{\text{腺嘌呤磷酸核糖转移酶}}\text{腺嘌呤核苷-5}'\text{-磷酸}+PP_i$$

人体细胞中嘌呤核苷酸的合成大都是通过"从无到有"的途径，但在脑细胞内则是通过"补救途径"而合成。IMP 和 GMP 的合成则通过次黄嘌呤-鸟嘌呤磷酸核糖转移酶(简称 HGPRT)，人体内 HGPRT 缺损造成一种称为自毁容貌综合症 (Lesch-Nyhan syndrome) 的先天性代谢疾病，表现为智力发育不全。

$$\underset{\text{(或鸟嘌呤)}}{\text{次黄嘌呤}}+\text{5-磷酸核糖焦磷酸}\xrightarrow{\text{HGPRT}}\underset{\text{(或鸟嘌呤核苷-5}'\text{-磷酸)}}{\text{次黄嘌呤核苷-5}'\text{-磷酸}}+PP_i$$

二、嘧啶核苷酸的合成

嘧啶核苷酸的合成过程也同样有两种方式：一种是在一个尚未完成的嘧啶环上接上磷酸核糖("从无到有"途径)，然后再转变为嘧啶核苷酸；另一种是从已经完成的嘧啶来合成核苷酸(补救途径)。

1. "从无到有"合成途径(图 14-4)

图 14-4 尿嘧啶核苷酸生物合成过程(从无到有)

1. 氨甲酰磷酸合成酶 2. 天冬氨酸氨甲酰转移酶 3. 二氢乳清酸酶 4. 二氢乳清酸脱氢酶 5. 乳清酸磷酸核糖转移酶 6. 乳清酸核苷-5′-磷酸脱羧酶

2. 从已形成的嘧啶环来合成(图 14-5)

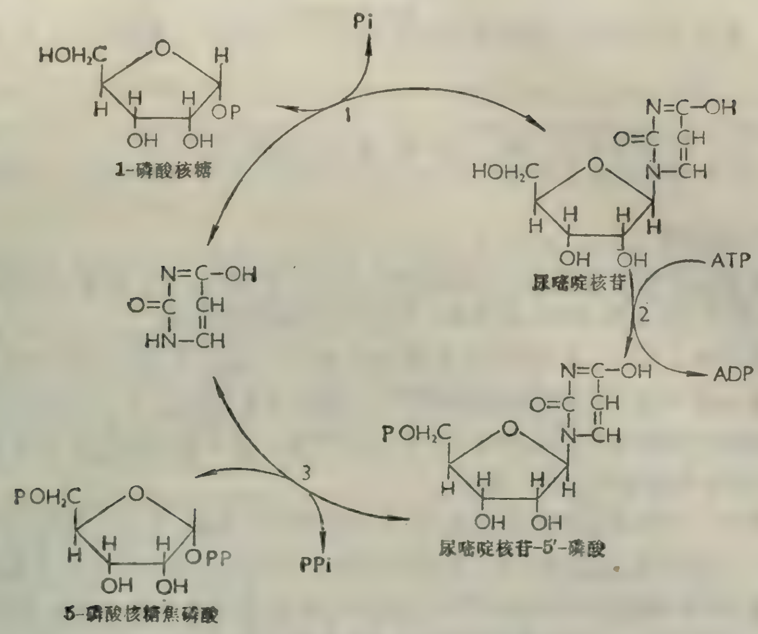


图 14-5 尿嘧啶生物合成过程(补救途径)

1. 尿核苷磷酸化酶 2. 尿核苷激酶 3. 尿核苷 5'-磷酸焦磷酸酶

至于胞嘧啶核苷酸则是在 UTP 的基础上形成的。UMP 通过激酶的作用形成 UDP 和 UTP。然后在 CTP 合成酶的作用下，UTP 生成 CTP。

$$\mathrm{UMP+ATP \rightleftharpoons UDP+ADP}$$
$$\mathrm{UDP+ATP \rightleftharpoons UTP+ADP}$$
$$\mathrm{UTP+NH_3+ATP \longrightarrow CTP+ADP+P_i}$$

三、脱氧核苷酸的合成

脱氧核苷二磷酸是从相应的核苷二磷酸通过核苷二磷酸还原酶的催化，还原形成。除核苷二磷酸还原酶外，还有硫氧还蛋白、硫氧还蛋白还原酶和 $NADP^+$ 等参与这个反应。大肠杆菌的核苷二磷酸还原酶由 B1、B2 两个亚基组成。B1 包含两条不同的多肽(α, α')，B2 则由两条相同的多肽(β)所组成。硫氧还蛋白是一种含硫的蛋白，硫氧还蛋白还原酶的辅基是黄素。

$$\text{硫氧还蛋白}-\mathrm{S_2+NADPH+H^+} \xrightarrow[\text{还原酶}]{\text{硫氧还蛋白}} \text{硫氧还蛋白}-\mathrm{(SH)_2+NADP^+}$$

$$\mathrm{CDP}\ (\text{或 UDP}) + \text{硫氧还蛋白}-\mathrm{(SH)_2} \xrightarrow[\text{核苷二磷酸还原酶 }(\mathrm{B_1, B_2})]{\mathrm{ATP,\ Mg^{++}}} \mathrm{dCDP}(\text{或 dUDP}) + \text{硫氧还蛋白}-\mathrm{S_2}$$

dGDP 和 dADP 也可通过类似的方式形成。

至于胸腺嘧啶脱氧核苷酸(简称胸苷酸，dTMP)的形成可以通过二条不同的途径。一条是由已经形成的胸腺嘧啶通过胸核苷磷酸化酶催化生成胸核苷(dT)，然后再通过胸核苷激酶的催化形成 dTMP：

$$\text{胸腺嘧啶}+\text{脱氧核糖-1-磷酸} \rightleftharpoons \mathrm{dT+Pi}$$
$$\mathrm{dT+ATP \longrightarrow dTMP+ADP}$$

另一条途径是以 dUMP 作为原料，以甲烯四氢叶酸作为甲基供体，形成 dTMP：

$$\text{dUMP+甲烯四氢叶酸} \xrightarrow{\text{dTMP合成酶}} \text{dTMP+二氢叶酸}$$

四、多核苷酸的合成

1. RNA 的合成

生物体内有三种酶可以催化 RNA 的合成，这三种酶是：1）依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶；2）依赖于 RNA 的 RNA 多聚酶；3）多核苷酸磷酸化酶。

(1) 通过依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶合成 RNA　依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶已经在许多生物中分离得到，它催化四种核苷-5′-三磷酸合成 RNA，但必须有 DNA 作为模板，在细菌细胞内这个酶的活力往往和 DNA 联系在一起，在高等生物中这个酶主要存在于核内，甚至也可能是染色体结构的一部分。

用肝细胞或一种小球菌制成抽提液，加入四种核苷三磷酸，其中一种用 ^{14}C 或 ^{32}P（α 位）标记。保温一定时间后，在不溶于酸、不能透析的大分子物质部分中出现放射性。这种大分子物质不能被 DNA 酶破坏，但能被 RNA 酶分解，也能被蛇毒磷酸二酯酶或碱分解，产物为单核苷酸，有些单核苷酸上有放射性。如缺一种核苷三磷酸，就严重地损害该大分子物质的合成。如将粗提取液先用 DNA 酶处理，就失去合成核酸的活力。这一实验说明粗提取液中含有作为模板的 DNA，合成的产物确是 RNA。合成 RNA 的底物为核苷三磷酸，反应如下：

$$\begin{matrix}\text{ATP}\\ \text{GTP}\\ \text{CTP}\\ \text{UTP}\end{matrix} \xrightarrow[\text{RNA 多聚酶}]{\text{DNA}} \text{RNA+PP}_i$$

这种离体合成的 RNA 的特点是它的核苷酸组成和顺序反映了 DNA 模板的组成。从表 14-1 可以看出 DNA 来自不同的生物，离体合成的 RNA 的碱基比例都反映出 DNA 的碱基比例，即 RNA 中 $\frac{A+U}{C+G}$ 与 DNA 中 $\frac{A+T}{C+G}$ 基本上是一样的，只不过在 DNA 中的 T 在新合成的 RNA 中由 U 所代替。

表 14-1　以不同生物来源的 DNA 为模板离体合成 RNA 的碱基比例

DNA 来源	DNA 中 $\frac{A+T}{C+G}$	参入到 RNA 中各种核苷酸的克分子数				RNA 中	
		AMP	UMP	GMP	CMP	$\frac{A+U}{C+G}$	$\frac{A+G}{U+C}$
T2 噬菌体	1.86	0.54	0.59	0.31	0.30	1.85	0.96
小牛胸腺	1.35	3.10	3.30	2.00	2.20	1.52	0.93
大肠杆菌	1.00	2.70	2.74	2.90	2.94	0.93	0.98
小球菌	0.40	0.55	0.52	1.10	1.12	0.48	1.01

从上表中最后一项的数据还可以看出在离体条件下合成的 RNA 是分别按照两条 DNA 单链的核苷酸组成而合成的，因此 RNA 的碱基也是互补的。所合成的 RNA 中 $\frac{A+G}{U+C}$ 的比值是 1 或接近于 1，说明嘌呤和嘧啶的数目是一样的，符合于互补的原则。一般在活体内二条 DNA 链中只有一条链被转录为 mRNA，这一条 DNA 单链称为有意义链，另外一条不作转录之用的称为无意义链。不过在某些生物中也可以从两条上分别转录某一区段形成 mRNA。

用分子杂交的方法也可以证明通过依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶合成的 RNA 和模板 DNA 的碱基组成是互补的。用 T2 噬菌体在含有 ^{32}P 的磷酸盐培养基中感染大肠杆菌，可以分离出带有 ^{32}P 标记的新合成的 RNA。将 T2 的 DNA 加热到 100°C 使 DNA 的双链解开，加入 ^{32}P 标记的新合成的 RNA，慢慢冷却，在 40°C 平衡 12 小时，可以形成由 DNA 单链和 RNA 单链组成的杂合分子(图 14-6)。说明这种新合成的 RNA 和 T2DNA 的碱基组成有互补的关系。用大肠杆菌的 DNA 代替 T2 DNA 进行同样的杂交试验，不能得到杂合分子。

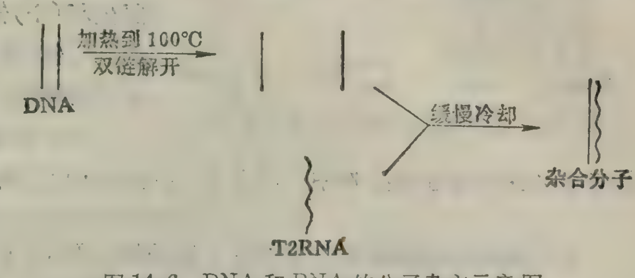


图 14-6　DNA 和 RNA 的分子杂交示意图

应用分子杂交的技术证明除 mRNA 外，tRNA、rRNA 和 DNA 也有互补的关系，说明它们的合成和 mRNA 一样也是用 DNA 作为模板的。全部 DNA 中大约只有 0.02% 是用于合成 tRNA，0.15% 用于合成 rRNA，极大部分是用来合成 mRNA 的。

大肠杆菌的依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶由五个亚基组成，即 $\alpha_2\beta\beta'\sigma$ 这五个亚基在一起时称为全酶。其中 $\alpha_2\beta\beta'$ 四个亚基构成酶的基本成分(用 e 表示)，称为核心酶。在活体内 σ 因子起着识别 DNA 上起动子的作用，从特定的区域开始合成 RNA，一旦开始以后，σ 因子便释放出来，在接长核苷酸链的过程中并不需要 σ 因子存在。另一方面，σ 还起着选择需要转录的一条有意义链的作用。在离体实验中证实如果没有 σ 因子存在，不但 RNA 的合成不易起动，而且两条链都被转录。图 14-7 表示 RNA 合成过程中 σ 因子的循环利用。

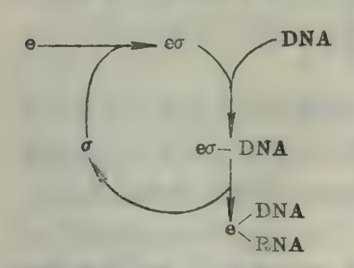


图 14-7　RNA 合成中 σ 因子的循环利用示意图

e 表示核心酶，e 先和 σ 结合成为全酶，开始转录以后，σ 释放出来

抗菌素利福平能作用于细菌的 RNA 多聚酶的核心酶部分中的 β-肽链，从而影响 RNA 的合成。利福平只对细菌有抑制作用，对高等动物没有抑制作用，因此是一种比较理想的抗菌素。目前在临床上已用作治疗结核病的有效药物。

通过 RNA 多聚酶合成 RNA 的反应不需要引物，合成的方向是从 5′ 端向 3′ 端延伸(即是按照模板 DNA 的 3′ 端向 5′ 端进行)。

(2) 通过依赖于 RNA 的 RNA 多聚酶合成 RNA　通过依赖于 RNA 的 RNA 多聚酶来合成 RNA 的过程在不少 RNA 噬菌体中已被深入地研究过。当噬菌体感染细菌时，RNA 是怎样合成的呢？一种方式是直接以噬菌体 RNA 为模板合成新的 RNA，也可能以另一种

方式合成，即是以噬菌体 RNA 为模板先合成一种 DNA 中间物(即反向转录作用，详后)，然后再以这中间物 DNA 为模板合成噬菌体 RNA。实验证明 f2, MS2 等大肠杆菌的 RNA 噬菌体是以第一种方式合成 RNA 的。已经知道放线菌素 D 可以抑制依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶，而 MS2 的繁殖并不能被放线菌素 D 抑制，而且 MS2 的 RNA 也不能和正常寄主或感染的寄主 DNA 形成杂交分子。当 MS2 感染了大肠杆菌半小时以后，就出现一种专一性的依赖于 RNA 的 RNA 多聚酶。将这种酶抽提出来并加以纯化后，用四种核苷三磷酸作为底物，在离体条件下可以合成 MS2 的 RNA。

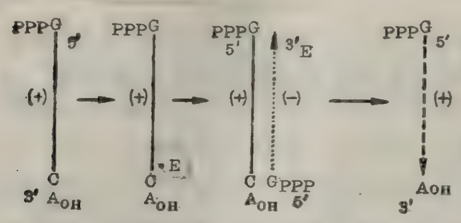


图 14-8 Qβ 噬菌体 RNA 合成示意图

图 14-8 表示大肠杆菌 RNA 噬菌体 Qβ 的合成过程。原来的噬菌体 RNA 链称为(+)链，酶先和(+)链的 OH 端结合，合成与(+)链互补的(−)链，形成双链的复制型。然后互补的(−)链再作为模板，合成许多新的(+)链。

(3) *通过多核苷酸磷酸化酶合成 RNA* 多核苷酸磷酸化酶在微生物中广泛存在，它催化核苷二磷酸聚合为多核苷酸：

$$n(\mathrm{NDP}) \rightleftharpoons (\mathrm{NMP})_n + n\mathrm{Pi}$$

这个酶在生物体内的主要作用可能是催化 RNA 分解为核苷二磷酸，而不是起合成 RNA 的作用，核苷二磷酸是合成脱氧核苷酸的前体。在实验室里这个酶被用来人工合成多核苷酸。应用粗的酶制剂时，不需要引物就可发生反应，但用高度纯化的酶制剂时则反应发生得很缓慢，如果加入少量的多核苷酸或低聚核苷酸如 pApApA 或 pApA 等作为引物时，可以使反应在一开始就较快地进行。引物必须至少含有二个核苷酸，并且在 3′ 端的羟基必须是自由的。

(4) *人工合成多核苷酸在实践上的应用* 病毒进入寄主细胞后可使寄主细胞产生一种称为干扰素的蛋白质，干扰素可以干扰病毒的转录(或转译，尚不清楚)，从而抑制病毒的繁殖。近年来正在努力找寻人工合成的、没有感染性的物质来代替病毒作为干扰素的诱导物，发现人工合成的某些双链 RNA 是有效的诱导物。

例如多(IC)具有显著的效应，而多(AU)就没有效应。此外，单链的多 I、多 C 也都没有效应，胸腺中的双链 DNA 也没有效应。实验动物小鼠身上接种鼠肺炎病毒三小时之前先从鼻中吸入多(IC)，17 只处理的小鼠都活，而对照组中 32 只小鼠仅一只存活。多(IC)并不只对鼠肺炎病毒有效，对某些其他病毒也是有效的。

多(IC)诱导干扰素的机制目前尚不了解，正在从转录及转译的角度探索这个问题，也有人假设它与 β-半乳糖苷酶诱导机制(详见第十六章)类似，多(IC)与细胞内的大分子阻遏物相结合，从而开启了干扰素合成的通路。但迄今还没有什么有力的证据足以支持这个假设。

2. DNA 的合成

(1) *半保留复制* 双链 DNA 是绝大多数生物的遗传信息的载体，那么在细胞分裂的时候 DNA 的合成通过什么方式才能在新的细胞内仍保持它原有的遗传信息呢？要合成一

种保持原有遗传信息的 DNA，只有假设按照模板复制的办法。在 DNA 双螺旋结构理论的基础上可以设想：双螺旋解开作为模板，按照 A-T G-C 配对方式使对应于模板的脱氧核苷酸进入应占的地位，通过依赖于 DNA 的 DNA 多聚酶的催化作用，以四种脱氧核苷三磷酸(dNTP)为底物，分别合成与二条模板对应的二条新链，然后以一新一旧脱氧多核苷酸组成的双链分别进入两个子细胞中，这种复制称为半保留复制(指细胞中保留了一条旧的单链)，如图 14-9 所示。

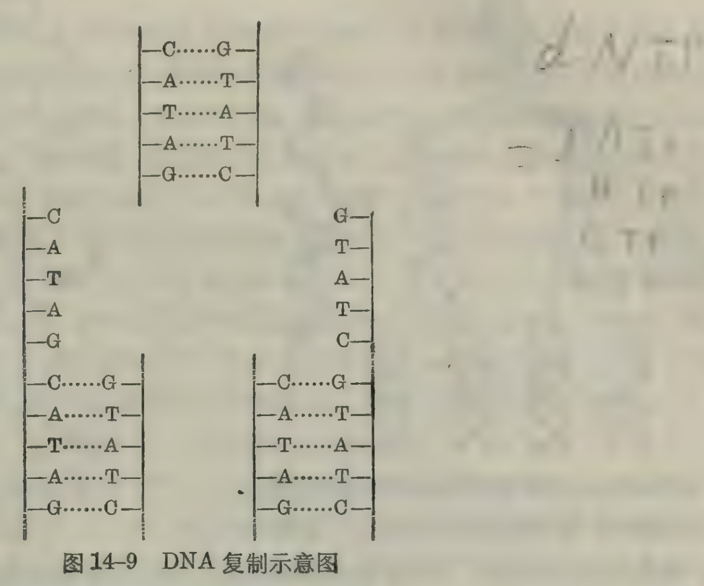


图 14-9 DNA 复制示意图

这一假设在 1958 年用密度梯度离心法结合同位素标记方法得到证实。这方法的主要内容如下：

1) 将大肠杆菌培养在含标记的 $^{15}NH_4Cl$ 的培养基内，繁殖 14 代，保证 DNA 上的 N 都是 ^{15}N。

2) 将上述培养好的细菌转入到含 $^{14}NH_4Cl$ 的培养基中继续培养，在细菌刚转入 $^{14}NH_4Cl$ 中(即 0 代)以及在 $^{14}NH_4Cl$ 培养基中分裂 1, 2, 3, 4 代时分别取样进行分析。

3) 用 SDS (硫酸十二烷基钠)处理样品，使细菌的细胞壁破坏，DNA 流到细胞外面。然后应用密度梯度平衡离心法，在氯化铯的浓溶液内进行高速长时间离心 (140,000×g 20 小时)。含 ^{15}N 或 ^{14}N 的两种 DNA 的比重不同，在氯化铯溶液中离心时分别处在不同密度的氯化铯层次中，重的在下面，轻的在上面。用紫外光吸收照相法，可以显示出各种组分在离心管内所占的地位，如图14-10 所示。

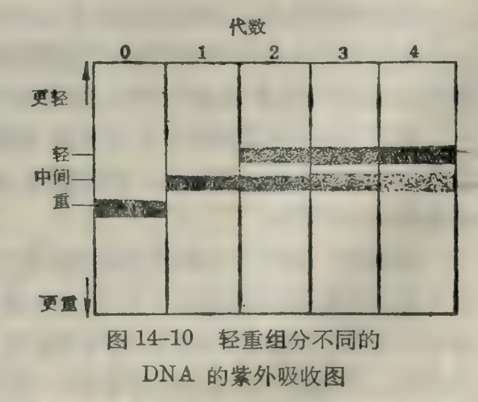


图 14-10 轻重组分不同的 DNA 的紫外吸收图

图中 0 代时 DNA 的两条单链全部是重的(即 ^{15}N-^{15}N)。第 1 代时全部为一轻一重的杂合分子(即 ^{15}N-^{14}N)，因此观察到的是均一的一条带，不过它的比重较 ^{15}N-^{15}N 为轻，所以处在较高的地位。第 2 代的 DNA 中包含有两种成分，一种是 ^{15}N-^{14}N，地位和第 1 代的 DNA 一样；另一种是全部轻的，即 ^{14}N-^{14}N，它的比重

较 ^{15}N–^{14}N 为轻，所以在 ^{15}N–^{14}N 的上面。第 3 代时仍有两种分子，不过 ^{14}N–^{14}N 的量更多了，两者的比例为 1:3。第 4 代时两者比例为 1:7。

将 ^{15}N–^{14}N 杂合分子加热，可以拆开成为标记的 ^{15}N 链和不标记的 ^{14}N 链，从而可以确证它是杂合的分子，如图 14–11 所示。

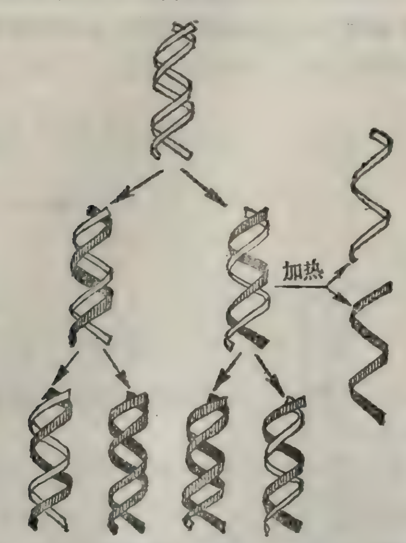


图 14–11　图14–10实验结果的解释，白色链表示 ^{15}N 单链，黑色链表示 ^{14}N 单链

图 14–12　DNA 多聚酶作用机制

(2) DNA 多聚酶　DNA 的复制是通过 DNA 多聚酶的催化而进行的。催化 DNA 合成的 DNA 多聚酶已经从许多种生物中分离得到，其中包括细菌和哺乳动物，以大肠杆菌的多聚酶研究得最为深入。已经从大肠杆菌中分离得到三种不同的 DNA 多聚酶：DNA 多聚酶 I、II、III。DNA 多聚酶 I 最早被发现，也称依赖于 DNA 的 DNA 多聚酶(或称 Kornberg 氏酶)。在离体条件下多聚酶 I 要求有单链的 DNA 作为模板，游离的 3′–OH 的低聚脱氧多核苷酸作为引物，以及四种脱氧核苷三磷酸作为底物，反应产物是与单链模板相对应的单链 DNA 和焦磷酸：

$$n\,\mathrm{dNTP} \longrightarrow (\mathrm{dNMP})_n + n\,\mathrm{PPi}$$

式中 dNTP 表示四种脱氧核苷三磷酸，$(\mathrm{dNMP})_n$ 表示 DNA，PPi 为焦磷酸。

合成新的一条多核苷酸链时，按照模板的 3′ 端向 5′ 端进行，新生的 DNA 则是在引物的基础上从 5′ 端向 3′ 端逐个接长，如图 14–12 所示。

曾经用大肠杆菌的 DNA 多聚酶 I 和噬菌体 ϕX 174 的 DNA 作为模板，成功地在离体条件下制备出 DNA 复制品。这样制备出来的 DNA 复制品可以感染大肠杆菌并繁殖出新的噬菌体 ϕX174。

多聚酶 I 被胰蛋白酶作用后分解为大小两个片段，小片段具有 5′→3′ 外切酶的活力，大片段具有聚合酶活力和 3′→5′ 外切酶活力。5′→3′ 外切酶活力用于切除 DNA 复制过程中的 RNA 引物；3′→5′ 外切酶活力则用于切除聚合作用中错误的核苷酸，以保持复制的真实性。目前认为在活体内多聚酶 I 既参与 DNA 的复制，也参与 DNA 遭到损伤后的修补作用。

多聚酶 III 在细胞内的含量虽比多聚酶 I、II 为少，但催化速率却远比多聚酶 I、II 为大

(比 I 大 15 倍，比 II 大 300 倍)。多聚酶 III 和多聚酶 I 同时参与复制作用。多聚酶 III 除具有 5′→3′ 的聚合活性外，还具有 3′→5′ 外切酶的活力，这种外切酶活力也是用在聚合过程中校正错误的核苷酸。

缺乏多聚酶 II 的大肠杆菌突变型的生长繁殖都是正常的，说明它与细菌 DNA 的复制无关。这个酶在细胞内的功能还不甚明确。

(3) DNA 的不连续合成

1) 冈崎片段：用噬菌体 T4 感染的大肠杆菌作实验材料，在短时间内测定同位素参入情况(^{3}H 胸核苷)，可以区别噬菌体 T4 的双链线状 DNA 的合成是连续的(从头到尾连续进行)还是不连续的(分段进行)。如果合成是连续的，那么脉冲标记应该在比较容易沉降的大分子 DNA上。如果合成是不连续的，标记应该出现在分子量较低的片段上，这种片段比较不容易沉降。如果一条链是连续合成的，另一条链是不连续合成，那么应该有一半容易沉降的 DNA 上带有标记。冈崎等人(1968)用这样的方法证明 DNA 的两条链都是不连续合成的。因为脉冲标记(2 秒钟)确实是在分子量较小的 DNA 片段(这种片段以后称为冈崎片段)上，只有在较长(30 秒钟以上)的标记实验中标记才出现在分子量较大的 DNA 中，而且随着标记时间的延长，前者(标记的小分子 DNA)的量愈来愈小，而后者(标记的大分子 DNA)的量愈来愈大。用大肠杆菌作实验也得到同样的结果。原核生物内冈崎片段的大小约为 1000～2000个核苷酸左右，大约相当于一个基因的大小。

此外在温度敏感的 T4 噬菌体突变型内也证明确实有冈崎片段存在。这种突变型的 DNA 连接酶在 20°C 时有活力，在 44°C 时没有活力。在 44°C 的温度中使 T4 突变型感染大肠杆菌，用同位素标记法，可以测得有冈崎片段累积，证明 DNA 的合成确实是通过不连续的方式进行的。

下面将进一步讨论冈崎片段的来源。

2) 刀叉模型：已经知道 DNA 多聚酶催化 DNA 合成时，新生的 DNA 单链是从 5′ 端向 3′ 端方向延长的。既然如此，那么当 DNA 双链复制出两条新的双链时，老的双链就必须两端同时解开，这样才能使每一条单链都从 5′ 向 3′ 进行合成。目前认为DNA并不是以这样方式进行复制的，在开始复制时，先在 DNA 的一端解开，两条新的单链合成是齐头同时并进的。冈崎片段的存在支持这样的看法：老的 DNA 双链从一端解开形成叉状，一条新链按 5′ 端到 3′ 端从外向内进行合成，另一条新链也按 5′ 端到 3′ 端从内向外进行合成，如图 14-13A 所示。然后双链继续解开，从外向内的一条新生链继续合成，如图中 B 所示。当到达分叉处，新链即按照另一条老的 DNA 链为模板，继续合成一小段 DNA 单链，形成叉状(比喻为叉)如图 14-13 中 C 所示。然后通过内切核酸酶(比喻为刀)的作用，切断分叉处，形成 DNA 片段，如图中 D 所示，这个过程重复进行。在复制过程中出现的这些 DNA 片段便是

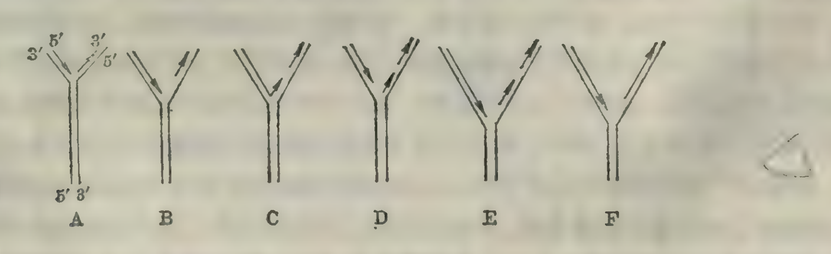


图 14-13 刀叉模型

冈崎片段。许多冈崎片段通过 DNA 连接酶连接起来成为大分子的 DNA。这个模型称为刀叉模型，它说明 DNA 复制的方向和冈崎片段的来源。根据这个模型似乎 DNA 双链之中的一条是不必以不连续方式进行合成，另一条则必须以不连续方式合成。这和上一节中的同位素实验结果似乎不一致。

3) RNA 引物假设：通过离体实验证明利福平能抑制 RNA 多聚酶的发动作用，说明利福平由于影响 RNA的合成而抑制细菌的生长。可是还发现在离体条件下利福平也能抑制噬菌体 M13 的环状单链 DNA 复制成为双链的过程。为什么利福平对 DNA 的合成也有抑制作用呢？一种解释认为 DNA 的合成过程依赖于 RNA 的合成。已经知道 DNA 合成时 DNA 多聚酶要求有低聚脱氧核糖核酸作为引物，RNA 合成时 RNA 多聚酶则不需要引物。可以设想在 DNA 合成过程中，RNA 的作用可能是为 DNA 多聚酶提供引物。在 DNA 合成时，先由 RNA 多聚酶按照 DNA 的一条单链的顺序作为模板，合成一小段与此 DNA 单链互补的低聚 RNA(可能为 50～100 个核苷酸)作为引物，四种脱氧核苷三磷酸在这段引物的 3′-OH 端接长，这段引物 RNA 以后受到核酸酶的作用而被切除，缺口处再补上 DNA，最后通过连接酶将 DNA 片段连接起来成为新生的 DNA 单链。

用同位素标记法的实验支持 RNA 引物假设。在离体情况下噬菌体 M13 的单链 DNA 复制为双链的过程中，加入标记有 ^{32}P 的前体脱氧核苷三磷酸，并将复制后的产物用碱水解，就会发现标记 ^{32}P 转移到核糖核苷酸上，说明有和 DNA 以共价键相连的 RNA 引物存在。目前认为在 RNA 引物上进行的聚合作用是由 DNA 多聚酶 III 所催化，RNA 引物的切除和补缺则由多聚酶 I 所催化。

(4) 依赖于 RNA 的 DNA 多聚酶　曾经用人工合成的多聚 AU 作为 RNA 模板，通过从大肠杆菌中分离得到的 DNA 多聚酶的作用，合成了多聚 dTdA。那么在活体内是否也有以 RNA 作为模板合成 DNA 的现象呢？七十年代初期确实发现劳氏肉瘤病毒繁殖时先要以 RNA 作为模板合成 DNA，然后再从 DNA 合成病毒 RNA。

病毒是一类非细胞形态的生物，不能独立生活，必须寄生在人、动物、植物或微生物细胞内，依赖寄主而繁殖，造成人畜、作物的病害，并能使发酵工业中的微生物发生溶菌，造成损失。病毒的结构非常简单，由外壳蛋白和包藏在壳中的核酸所组成。根据核酸的种类，病毒

可分为 DNA 病毒和 RNA 病毒两大类。表 14-2 列举几种常见的病毒的性质。

表 14-2 几种常见病毒的性质

病毒名称	寄主	DNA 或 RNA	单链或双链	形状	分子量
T2	大肠杆菌	DNA	双	线状	130×10^6
T5	大肠杆菌	DNA	双	线状	85×10^6
T7	大肠杆菌	DNA	双	线状	25×10^6
λ	大肠杆菌	DNA	双	线状	32×10^6
φX174	大肠杆菌	DNA	单	环状	1.7×10^6
P22	大肠杆菌	DNA	双	线状	26×10^6
MS2	大肠杆菌	RNA	单	线状	1.1×10^6
多瘤病毒	哺乳动物	DNA	双	环状	3×10^6
泡疹病毒	人类	DNA	双	—	68×10^6
小儿麻痹病毒	人类	RNA	单	线状	2.2×10^6
呼肠孤病毒	哺乳动物	RNA	双	线状	12×10^6
TMV	烟草	RNA	单	线状	2×10^6

RNA 病毒在繁殖方式上又有两种不同类型，一种类型如 TMV 或小儿麻痹病毒都是以病毒 RNA 直接作为复制的模板；另外一种类型如劳氏肉瘤病毒，它的繁殖必先从原来的病毒 RNA 上的信息反转录为 DNA，然后再从 DNA 转录出病毒 RNA。这一类病毒也可称为 RNA-DNA 病毒，以区别于不经 DNA 而直接合成的 RNA 病毒。

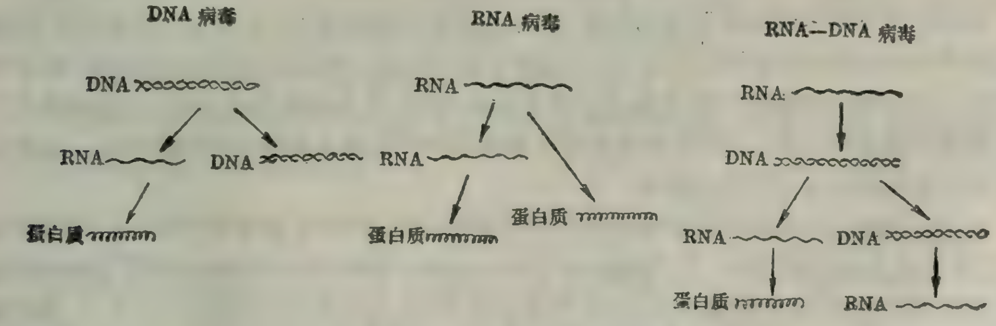


图 14-14 三种不同类型的病毒

图 14-14 表示三类不同病毒中的 DNA 和 RNA 以及蛋白质的关系。

一般的病毒侵入细胞后，在细胞内迅速繁殖，病毒破细胞而出，细胞死亡。劳氏肉瘤病毒侵入鸡细胞后，细胞被转化为癌细胞。癌细胞不但能分裂，还能产生新的病毒。新的病毒颗粒通过芽生作用，从细胞中游离出来(图 14-15)，继续感染其他细胞。

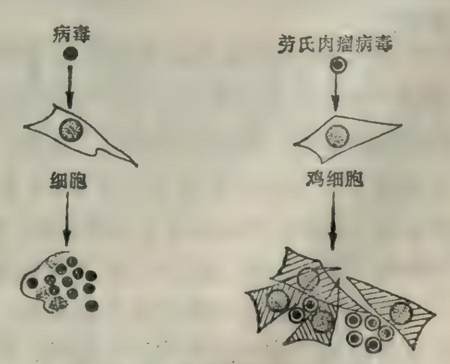


图 14-15 病毒感染细胞示意图

已经知道，低浓度的放线菌素 D 在研究核酸的生物合成问题上有很大的用处。它能抑制依赖于 DNA 的 RNA 多聚酶的活力，但对依赖于 RNA 的 RNA 多聚酶却很少抑制。放线菌素 D 能抑制组织培养物中的劳氏肉瘤病毒的繁殖，但对其他 RNA 病毒的繁殖不能抑制，说明

劳氏肉瘤病毒的繁殖与依赖于DNA的RNA多聚酶有关，也就是说劳氏肉瘤病毒的RNA不是从病毒RNA直接复制出来的，而是先要通过DNA，然后合成它的RNA，如图14-16所示。图中(*a*)表示在正常细胞中以DNA作为模板合成RNA；(*b*)表示加入了放线菌素D以后细胞的RNA合成被抑制；(*c*)表示放线菌素D并不抑制一般的RNA病毒的增殖，但细胞RNA的合成被抑制，因为放线菌素D不抑制依赖于RNA的RNA多聚酶，但能抑制依赖于DNA的RNA多聚酶；(*d*)表示放线菌素D对劳氏肉瘤病毒的RNA合成和细胞RNA的合成都有抑制。

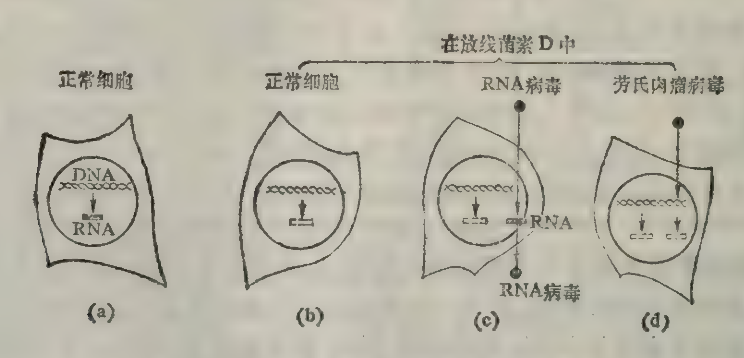


图14-16 放线菌素D对病毒繁殖的影响

用分子杂交的方法也证明劳氏病毒RNA和感染细胞中的DNA可以形成杂合分子，说明病毒RNA的顺序和细胞中某些DNA的顺序是互补的。更为可靠的是证明劳氏病毒中确实有一种DNA多聚酶存在，它能用病毒的单链RNA作为模板合成DNA，这酶也称为反向转录酶或称逆转录酶，后来相继发现这种酶在不少肿瘤或非肿瘤病毒中都存在。此外在小鼠和人的细胞中也发现有这种酶。

反向转录酶的发现说明生物体内遗传信息不仅可以从DNA转录到RNA上，而且也可以从RNA反向转录到DNA上，因而发展了中心法则。此外反向转录酶的存在还说明病毒可以潜伏在细胞里，因为按照病毒RNA所合成的DNA可以整合到细胞的DNA上，随着细胞的分裂而遗传下去，一旦遇到某些因素的刺激时就重新转录为病毒RNA，增殖为新的病毒粒子。

(5) 射线对DNA的损伤和修复　紫外线可以使DNA分子的结构发生改变，而使细胞损伤。紫外线的主要作用是使DNA分子的一条链上邻接的两个嘧啶碱基之间形成共价键，两个嘧啶连在一起的结构称为二聚物。DNA的二种嘧啶中，以胸腺嘧啶二聚物发生的机会较多。二聚物的结构可以使DNA分子构型发生扭力，与对应的腺嘌呤间的氢键断裂，从而影响DNA分子的正常复制和转录，造成细胞死亡或发生突变。图14-17*A*表示包含有二聚物的DNA双链，图14-17*B*表示胸腺嘧啶二聚物的形成。

受紫外线照射而损伤的大肠杆菌，经可见光(500 nm的效果最好)的照射后，存活力可以显著提高，这一过程称为光复活。光的作用是使光复活酶活化，这种酶可以使二聚物解开，恢复原状。除大肠杆菌外，还发现酵母菌等也有这种酶。

此外在不见光的条件下细胞也能恢复，这过程称为暗复活，这个过程中包括由四个酶催化的四个步骤：

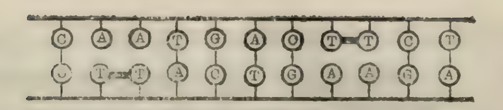


图 14-17a　含有二聚物的 DNA 双链

图 14-17b　胸腺嘧啶二聚物

1）内切核酸酶识别二聚物的位置，在二聚物近旁的 5′ 端进行水解，在一条单链上造成缺口，在缺口的一端（不包括二聚物的一端）留下 3′-OH，另一端（即包括有二聚物的一端）为 5′-P。

2）DNA 多聚酶 I 以另一条完整的互补的 DNA 单链作模板，以 dNTP 为原料合成一段新的多核苷酸。

3）外切核酸酶（DNA 多聚酶 I 或其他外切核酸酶）切下包含有二聚物的一小段多核苷酸（产物为 5′-单核苷酸和少数带有二聚物的二或三核苷酸）。

4）最后由连接酶将缺口连接起来，完成修补过程。

按上述的顺序进行的修复为先补后切，即如图 14-18 所示。如用其他外切核酸酶时，则次序为先切后补，即（2）（3）颠倒。

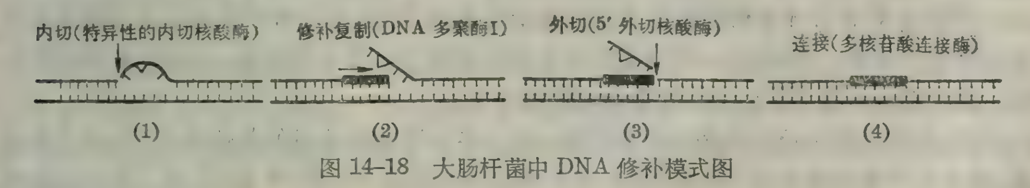


图 14-18　大肠杆菌中 DNA 修补模式图

癌症和细胞内的修复系统有一定的关系。着色性干皮病是通过常染色体以隐性方式传递的一种人类遗传病，患者对日光照射特别敏感，当他们受到日光中的紫外线照射后，DNA 分子发生损伤，由于细胞内缺乏内切核酸酶的活力，损伤的 DNA 不能修复，因此特别容易发生皮肤癌。

第十五章 蛋白质的生物合成

第一节 蛋白质合成与核酸的关系

生物体内蛋白质的合成与核酸有密切的关系。早已知道凡蛋白质合成旺盛的器官、组织或细胞往往都含有大量的RNA，例如生长旺盛的洋葱根尖、产生蛋白酶的细胞、神经细胞以及正在分化的胚胎、正在分裂的细菌、蚕的丝腺等等。相反，生理活性虽高而蛋白质合成不活泼的组织所含的RNA的量就不多，此外还观察到核糖核酸酶可以阻止氨基酸参入到蛋白质中去。这些事实都说明蛋白质的合成与RNA的合成有着平行的关系。而DNA对于蛋白质的合成则并没有这样直接的关系，虽然它在根本上决定着蛋白质的质和量。

早在1928年Griffith做了这样的实验，把活的粗糙型的肺炎双球菌(细菌细胞外面没有荚膜的称为粗糙型)和杀死的光滑型的肺炎双球菌(细菌细胞外面有荚膜的称为光滑型)一起注射到实验动物小鼠体内，不少注射过的小鼠都感染生病，而且还在这些感染的小鼠心血内分离出活的光滑型病菌。已经知道只有光滑型的肺炎双球菌能够致病，粗糙型是不会致病的。上述实验中所用的光滑型已经杀死，为什么还能分离得到活的光滑型菌呢？杀死的菌重新复活是不可能的，那么这种光滑型菌又是那里来的呢？到了1944年这个问题又被深入研究，Avery从有荚膜的双球菌中分离出一种物质，将这种物质和没有毒性(没有夹膜)的肺炎双球菌一起培养，可以使后者从没有毒性变为有毒性，这现象称为转化作用。这种具有转化性能的物质经过仔细的物理、化学的分析(包括可被DNA酶失活，以及对紫外线的吸收特性等)，确证为DNA。此后又陆续发现对链霉素的抗性或者某一种酶的活性都可被转化。例如从能利用甘露糖醇的肺炎双球菌中提取的DNA可以将不能利用甘露糖醇的菌转化为能利用的菌。经过深入的研究发现在受体细胞中出现了新的酶，即磷酸甘露糖醇脱氢酶。这个实验说明DNA与蛋白质合成密切有关。

此外，用同位素标记的噬菌体感染细菌，进一步证明遗传信息的载体是DNA而不是蛋白质。将大肠杆菌的噬菌体T2的DNA和外壳蛋白分别用^{32}P和^{35}S标记，这二种标记的噬菌体分别感染大肠杆菌时，发现进入细菌细胞的只有噬菌体的DNA，噬菌体的外壳蛋白仍留在细菌外面，但是繁殖出来的噬菌体却仍具原来噬菌体的一切特性，包括外壳蛋白的特性。

自然界中绝大多数生物都是以DNA作为遗传信息的载体，但也有少数生物不含DNA，只含RNA，例如为害烟草的烟草斑纹病毒和某些寄生在细菌内的噬菌体如大肠杆菌的MS2噬菌体等，在这些生物中RNA就兼备着遗传信息载体的作用和作为合成蛋白质模板的作用。

第二节 中心法则

DNA、RNA、蛋白质之间的相互关系可以用近年来分子生物学中提出来的“中心法则”来概括。

中心法则可以概括为这样一句话：包含在核酸中的遗传信息可以传向蛋白质，可是蛋白质中的遗传信息不能传向核酸。所谓遗传信息，在这里指的就是核酸分子中的核苷酸排列顺序或蛋白质分子中的氨基酸排列顺序。

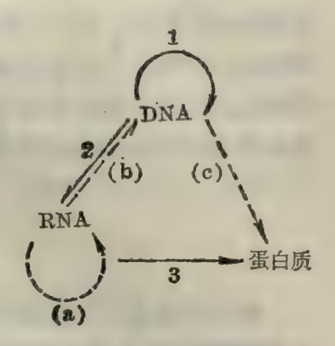


图 15-1 中心法则图

1 和 a 表示复制；2 表示转录；3 表示转译；b 表示反转录；c 尚未发现

核酸中的遗传信息可以通过 DNA 或 RNA 的复制而传向 DNA 或 RNA（图 15-1 中的 1 和 a）。DNA 分子中的遗传信息可以传向 RNA（图 15-1 中的 2），这就是多数生物中的转录。RNA 分子中的遗传信息也可以逆向传向 DNA，这就是 1970 年发现的劳氏肉瘤病毒在寄主细胞中依靠反向转录酶的作用所进行的 DNA 的合成，即反转录（图 15-1 中的 b）。RNA 的遗传信息是否可以传向蛋白质，这就是多数生物中的转译（图 15-1 中的 3）。DNA 的遗传信息或许可以不经过 RNA 而直接传向蛋白质（图 15-1 中的 c），可是这方面还没有实验证据。至于蛋白质中的遗传信息可以传向 DNA 或 RNA，到现在为止也还没有得到任何实验证据。因此根据现有的实验证据可以将中心法则作为讨论蛋白质生物合成的总的原则。

第三节 遗传密码

DNA 好比是一篇用密（电）码写成的文章，脱氧核苷酸就是它的密码。我们知道打电报时用一个四位数字来代表一个汉字，这个四位数字便称为电码。电报局里备有一本标准的电码对照表，从这本书里便可以确切地翻译出电报内容。对于生物来说，它的 DNA 都是由几百万个四种脱氧核苷酸所组成，这四种脱氧核苷酸又是以不同的排列组合方式出现，这就象一篇由电码写成的文章，在这里每一个电码（即是几个连续的核苷酸）就表示一个氨基酸。每一种生物的“文章”都不相同。当我们还不知道这些电码究竟代表的是什么氨基酸时，我们只能把这种电码称为密电码或简称密码。生物有了一定结构的 DNA，就可以通过 RNA 多聚酶以 DNA 作为模板，按照配对原则合成相应结构的 mRNA，于是 DNA 上“文章”的内容也就正确地反映到 mRNA 上。我们讨论的密码实际上是指 mRNA 上的核苷酸的排列顺序。

普通的电报号码是由四个数字组成，生物的密码究竟是由几个数字组成的呢？RNA 中的核苷酸有四种，而氨基酸有 20 种，四种核苷酸怎样排列组合时才足以代表这 20 种氨基酸呢？如果每一种核苷酸代表一种氨基酸，那么只能代表四种氨基酸，这显然是不可能的。如

表 15-1 由二个核苷酸组成的十六种密码

	U	C	A	G
U	UU	UC	UA	UG
C	CU	CC	CA	CG
A	AU	AC	AA	AG
G	GU	GC	GA	GG

表中 A：腺嘌呤核苷酸，G：鸟嘌呤核苷酸，U：尿嘧啶核苷酸，C：胞嘧啶核苷酸。

果每二个核苷酸代表一种氨基酸，可以排出 16 种式样，也只能代表 16 种氨基酸，仍不能满足 20 种氨基酸的要求。如果由三个核苷酸表示一种氨基酸的密码时，就可以有 64 种不同的式样，这样对于 20 种氨基酸却又太多了。如果由四个核苷酸来表示，那当然就更多了。所以理论上最为可能的是用三个核苷酸来代表一个氨基酸（表 15-3）。根据大量的实验结果，现在知道密码确实是由三个而不是四个核苷酸所组成。

一、密码子是三联体

密码子是由三个连续的核苷酸所组成，这三个核苷酸也称为三联体。三联体密码子首先在噬菌体 T4 的突变型的研究中得到证实。用一种吖啶类化合物原黄素处理 T4，可以得到一类突变型（用"－"表示，即 DNA 分子内缺失一个核苷酸），这类突变型再经原黄素处理后，可以得到表型回复为野生型的品系，但许多回复子并不是在原先发生突变的位点上发生回复突变，而是在另一位点上又发生了一次突变，这一突变抑制了或者说抵消了原来突变的表现（用"＋"表示，即 DNA 分子上增加了一个核苷酸）。通过杂交重组，可以把各个"－"或各个"＋"两突变位点组合起来，组合后的品系如表 15-2 所示。

表 15-2 噬菌体 T4 的"＋""－"突变型和它们的表型

类别	基因型	表型	说明
I	＋或－	突变型	单个位点发生突变
II	＋＋或－－	突变型	同一类型中的双突变
III	＋＋＋＋或－－－－ ＋＋＋＋＋或－－－－－	突变型	同一类型中四个或五个突变组合在一起
IV	＋－	正常	不同类型的两个突变组合在一起
V	＋＋＋或＋＋＋＋＋＋ －－－或－－－－－－	正常	同一类型中三个突变组合在一起，或三的倍数突变组合在一起

吖啶类化合物的作用是嵌入 DNA 分子内，从而使 DNA 分子变形而影响复制，造成新合成的 DNA 链上核苷酸的增加或缺失。必须假设密码子是三联体才能完满地解释以上这些实验结果。

正常	ACG—ACG—ACG—ACG—ACG—ACG—ACG a …… a …… a …… a …… a …… a …… a	每一三联体 ACG 决定氨基酸 a，形成一条多聚 a。
缺失一个核苷酸	ACG—ACG—ACG—ACG—ACA—CGA—CGA ↓ G a …… a …… a …… a …… d …… e …… e	失去 G，前四个仍决定氨基酸 a，ACA 决定 d，CGA 决定 e。缺失以后的密码全部都是错误的，肽链结构发生相应的变化。所以表型是突变型。
双突变（＋、－）	↓ ACG—XAC—GAC—GAC—GAC—ACG—ACG ↓ G a …… b …… c …… c …… c …… a …… a	失去 G，又加入 X，中间四个三联体所决定的氨基酸改变，但前后仍与正常一样。只要中间这几个氨基酸与蛋白质的活力无关，这一双突变的表型就属正常。
三突变（＋、＋、＋）	↓ ↓ ↓ ACG—XAC—GAX—CGA—CXG—ACG—ACG a …… b …… f …… e …… g …… a …… a	加入三个 X 后，除中间四个三联体所决定的氨基酸改变以外，前后仍和正常一样，表型正常。

事实也确实和上述解释一致。有人分析了 T4 噬菌体中影响溶菌酶的突变型与野生型的氨基酸顺序，并参照了密码表排出 mRNA 内核苷酸的顺序(图 15-2)，证实了上述的解释。推测突变型 ej17 是由于增加了两个核苷酸所造成；突变型 ej44 是由于增加了一个核苷酸所造成；“回复子”是一个双突变，由 ej17 和 ej44 所组成，也即是在 ej17 的基础上又增加了一个核苷酸(突变型 ej44) 的结果。突变型 ej17 中从核苷酸增加的位置以后的密码全部都是错误的。双突变则只有从缬氨酸到甲硫氨酸之间的一段属于错误密码以外，从丙氨酸以后的密码全部都属正确。

野生型	蛋白质顺序(分析结果)	赖	丝	脯	丝	亮	天酰	丙——	
	mRNA顺序(根据氨基酸推测的)	AA^A_G	AGU ↑ 加入 GU (ej17)	CCA	UCA	CUU	AAU	GC ↑ 加入 G (ej44)	
移码双突变(回复子)	mRNA顺序(根据氨基酸推测的)	AA^A_G	AGU	GUC	CAU	CAC	UUA	AUG	GC
	蛋白质顺序(分析结果)	赖	丝	缬	组	组	亮	甲硫	丙

图 15-2 移码突变

加入 GU 后为突变型 ej17；如单加入 G 则为突变型ej44。ej44 和 ej17 双重突变为回复子

遗传学上把这种由于密码移位而造成的突变称为移码突变。缺失(或增加)一个或二个核苷酸会造成缺失(或增加)部位以后的全部氨基酸误译。若同时缺失(或增加)三个核苷酸(或三个的倍数)时，则大部分氨基酸可获得校正。只要发生变化的 mRNA 部位之间的距离不太远，而又不影响所转译的酶或蛋白的活力中心，一般可以恢复为正常的表型。

二、怎样证明某一三联体代表某一氨基酸

1. 生物化学方法

用人工合成的一个简单的多核苷酸代替天然的 mRNA，观察这样结构的 RNA 可以指导合成怎样的多肽，就可以推测氨基酸的密码。例如合成一个多聚尿嘧啶核苷酸(简写为多 U)作为 mRNA，把它加入到一个从细菌制备的无细胞抽提物中，抽提物中的内源 mRNA 事先已经设法除去，再加入放射性同位素标记的氨基酸和 ATP，在一定的条件下保温后，观察哪一种标记氨基酸参入到蛋白质状物质中去。结果发现只有在标记的苯丙氨酸的样品中有放射性物质的参入，这个蛋白质状的物质是多聚苯丙氨酸。这实验结果说明苯丙氨酸的密码是和几个 U 连在一起的结构有关。此外又人工合成了多 A 和多 C，证明有赖氨酸、脯氨酸的参入。还有人合成一些共聚的多核苷酸作为mRNA，做同样的实验，例如用顺序为 CUCUCUCUCU…的多(CU)，就可以得到亮氨酸和丝氨酸相间隔的多肽。这个多核苷酸按三联体划分时显然只有两种形式，即 CUC 和 UCU，再和其他实验相印证，认为这二个三联体确实可以分别代表亮氨酸和丝氨酸。

此外还有人直接用三核苷酸作为模板研究密码，这个方法称为三联体结合试验(图 15-3)。即是用一个三核苷酸代替人工合成的多核苷酸，在含有核糖体和 ^{14}C-氨基酰-tRNA

的缓冲系统中，无需酶促核糖体便可以和带有特定氨基酰-tRNA的三核苷酸结合，例如三核苷酸为pUpUpU时，则只有 ^{14}C-苯丙氨酰-tRNA结合到核糖体上。用硝酸纤维制成的滤膜过滤，结合有氨基酰-tRNA的核糖体保留在滤膜上，未结合的氨基酰-tRNA被洗脱，测定滤膜上的放射性，就可知道和核糖体上的三核苷酸结合的是哪一种氨基酸。用同样的方法试验二核苷酸，例如pUpU，发现结合的效果很差，这也说明密码子是三联体而不是二联体。

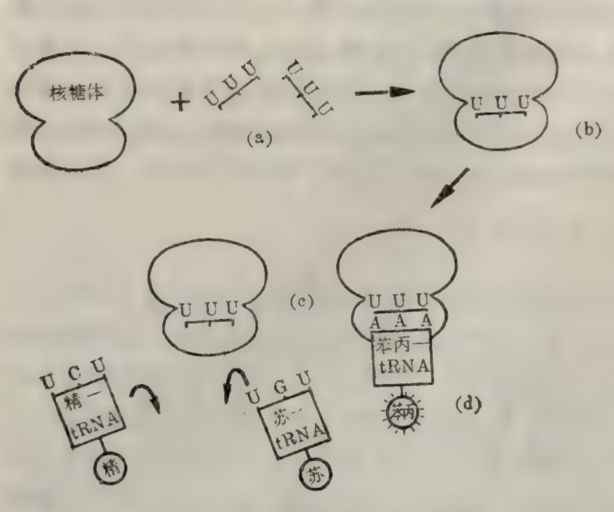


图 15-3　三联体结合试验示意图

表15-3所载是迄今为止公认的密码，代表了18种氨基酸和二种酰胺。蛋白质组分中的胱氨酸、羟脯氨酸则没有相应的密码子，说明这两种氨基酸是在多肽形成之后通过氧化或其他反应生成的。表中还有三个密码子称为终止密码子(即UAA、UGA和UAG)，它们并不代表任何一种氨基酸，所以也称为无意义密码子，在多肽合成中起着终止的作用。其余61个密码子中，不少密码子所代表的氨基酸是重复的，例如UUU和UUC都是代表苯丙氨酸，因此UUU和UUC称为简并密码子，也称同义密码子。

表 15-3　遗传密码

5′端的碱基	中间的碱基				3′端的碱基
	U	C	A	G	
U	苯丙	丝	酪	半胱	U
	苯丙	丝	酪	半胱	C
	亮	丝	终止	终止	A
	亮	丝	终止	色	G
C	亮	脯	组	精	U
	亮	脯	组	精	C
	亮	脯	谷酰胺	精	A
	亮	脯	谷酰胺	精	G
A	异亮	苏	天冬酰胺	丝	U
	异亮	苏	天冬酰胺	丝	C
	异亮	苏	赖	精	A
	甲硫(起译时为甲酰甲硫)	苏	赖	精	G
G	缬	丙	天冬	甘	U
	缬	丙	天冬	甘	C
	缬	丙	谷	甘	A
	缬(起译时为甲酰甲硫)	丙	谷	甘	G

2. 遗传学方法

用遗传学方法也可以从另外一个方面来证明表15-3中密码的可靠性。已经知道亚硝酸对生物的诱变作用是由于它对核酸分子的碱基起了脱氨基作用，从而改变碱基的结构，例如胞嘧啶变为尿嘧啶，腺嘌呤变为次黄嘌呤。

胞嘧啶 $\xrightarrow{HNO_2}$ 尿嘧啶

腺嘌呤 $\xrightarrow{HNO_2}$ 次黄嘌呤

次黄嘌呤虽然不是RNA中的正常碱基，但通过氢键配对时，和鸟嘌呤的性质相似，所以亚硝酸对腺嘌呤作用后的产物，从配对角度来看，可以看作鸟嘌呤。

次黄嘌呤－胞嘧啶

烟草斑纹病毒(TMV)是只含RNA和蛋白质而不含DNA的一种植物病毒，它的遗传信息载体就是RNA。用亚硝酸处理从TMV中抽提出的RNA，然后用这处理过的RNA去感染寄主，出现许多和野生型不同的突变型。在41个突变型中，外壳蛋白质的肽链(野生型的外壳蛋白由158个氨基酸所组成，顺序已全部弄清楚)上共有22个位置上的氨基酸被其他氨基酸所代替，表15-4中仅举出其中一部分例子。表内的任何一例都和表15-3的密码相符合。例如苏氨酸的密码为 $\mathrm{AC}\begin{smallmatrix}\mathrm{U}\\\mathrm{C}\\\mathrm{A}\\\mathrm{G}\end{smallmatrix}$，经过亚硝酸处理后C→U，原密码就变为 $\mathrm{AU}\begin{smallmatrix}\mathrm{U}\\\mathrm{C}\\\mathrm{A}\\\mathrm{G}\end{smallmatrix}$，而异

表15-4 野生型和突变型的TMV外壳蛋白中氨基酸差异

氨基酸位置	野生型蛋白中的氨基酸	突变型蛋白中的氨基酸	氨基酸位置	野生型蛋白中的氨基酸	突变型蛋白中的氨基酸
5	苏	异亮	73	天冬酰胺	丝
20	脯	亮	97	谷	甘
24	异亮	缬	107	苏	甲硫
55	丝	亮	126	异亮	缬
59	苏	异亮	134	精	甘
61	精	甘	138	丝	苯丙
63	脯	丝	156	脯	亮
66	天冬	甘			

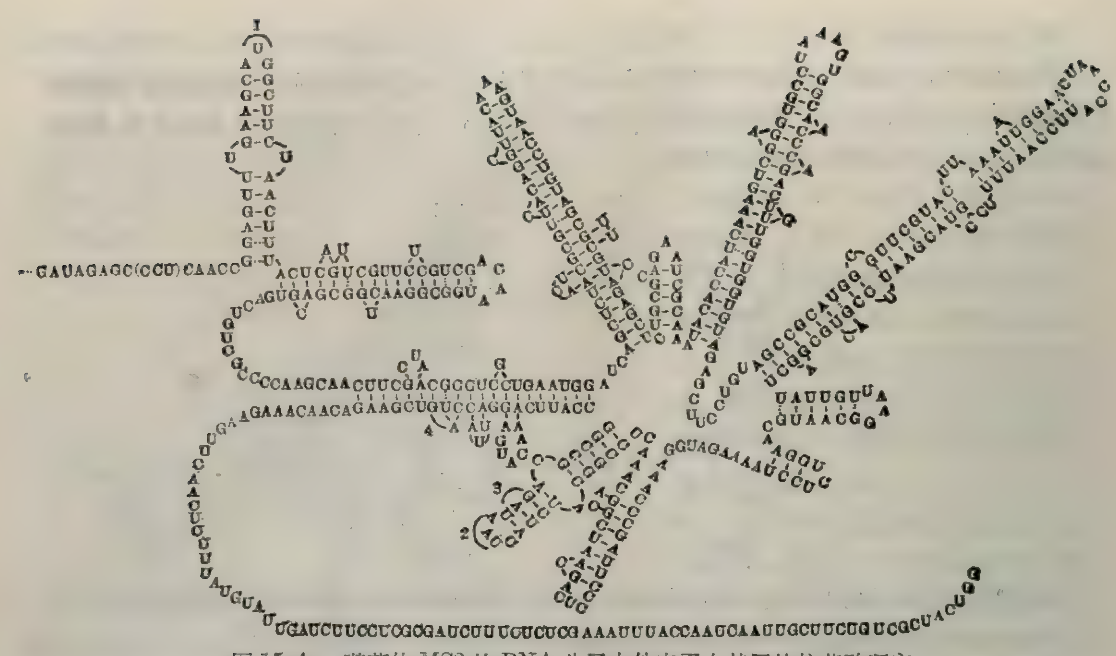


图 15-4a 噬菌体 MS2 的 RNA 分子中外壳蛋白基因的核苷酸顺序

图内标有 1 的三联体 AUG 为外壳蛋白的起译密码子；标有 2, 3 的两个三联体 UAA、UAG 为外壳蛋白的终止密码子；标有 4 的三联体 AUG 为 RNA 复制酶基因的起译密码子

… (G)

GCU·UCU·AAC·UUU·ACU·CAG·UUC·GUU·CUC·GUC·GAC·AAU·GGC·GGA·ACU
Ala Ser Asn Phe Thr Gln Phe Val Leu Val Asp Asn Gly Gly Thr
1 5 10 15

·AUA·GAG·CUC·UCA·ACC·GGA·GUU·UGA·AGC·AUG·

·GGC·GAC·GUG·ACU·GUC·GCC·CCA·AGC·AAC·UUC·GCU·AAC·GGG·GUC·GCU
Gly Asp Val Thr Val Ala Pro Ser Asn Phe Ala Asn Gly Val Ala
20 25 30

·GAA·UGG·AUC·AGC·UCU·AAC·UCG·CGU·UCA·CAG·GCU·UAC·AAA·GUA·ACC
Glu Trp Ile Ser Ser Asn Ser Arg Ser Gln Ala Tyr Lys Val Thr
35 40 45

·UGU·AGC·GUU·CGU·CAG·AGC·UCU·GCG·CAG·AAU·CGC·AAA·UAC·ACC·AUC
Cys Ser Val Arg Gln Ser Ser Ala Gln Asn Arg Lys Tyr Thr Ile
50 55 60

·AAA·GUC·GAG·GUG·CCU·AAA·GUG·GCA·ACC·CAG·ACU·GUU·GGU·GGU·GUA
Lys Val Glu Val Pro Lys Val Ala Thr Gln Thr Val Gly Gly Val
65 70 75

·GAG·CUU·CCU·GUA·GCC·GCA·UGG·CGU·UCG·UAC·UUA·AAU·AUG·GAA·CUA
Glu Leu Pro Val Ala Ala Trp Arg Ser Tyr Leu Asn Met Glu Leu
80 85 90

·ACC·AUU·CCA·AUU·UUC·GCU·ACG·AAU·UCC·GAC·UGC·GAG·CUU·AUU·GUU
Thr Ile Pro Ile Phe Ala Thr Asn Ser Asp Cys Glu Leu Ile Val
95 100 105

·AAG·GCA·AUG·CAA·GGU·CUC·CUA·AAA·GAU·GGA·AAC·CCG·AUU·CCC·UCA
Lys Ala Met Gln Gly Leu Leu Lys Asp Gly Asn Pro Ile Pro Ser
110 115 120

·GCA·AUC·GCA·GCA·AAC·UCC·GGC·AUC·UAC·UAA·UAG·ACG·CCG·GCC·AUU
Ala Ile Ala Ala Asn Ser Gly Ile Tyr
125 129

·CAA·ACA·UGA·GGA·UUA·CCC·AUG·UCG·AAG·ACA·ACA·AAG·AAG·(U)
Ser Lys Thr Thr Lys Lys
1 5

图 15-4b 噬菌体 MS2 外壳蛋白分子中氨基酸顺序

亮氨酸的密码恰好是 $AU\overset{U}{\underset{A}{C}}$。又如野生型 TMV 66 位上的氨基酸为天冬氨酸，天冬氨酸的密码为 GA^{C}_{U}，经亚硝酸处理后，A 变为 I，而 I 的配对行为和 G 一样，于是 GA^{C}_{U} 变为 GG^{C}_{U}，后者就是甘氨酸的密码。从这张表里还可以看到氨基酸的替代只能单方向进行，即只能从氨基酸甲变为氨基酸乙，而没有从氨基酸乙变为氨基酸甲。例如只有苏氨酸变为异亮氨酸，而没有从异亮氨酸变为苏氨酸。这是由于亚硝酸只能使 C 变为 U，不能使 U 变为 C。此外也没有发现过其他氨基酸来替代苯丙氨酸的现象。这说明氨基酸替代确实是由于 HNO_2 对胞嘧啶(C)进行脱氨作用生成尿嘧啶(U)的结果。如果已经是 U（例如苯丙氨酸的密码子是 UU^{U}_{C}），则决不会发生逆变化而形成 C。

近几年来生化分析方法进展极快，已经能将分子量相当大的核酸的顺序正确地分析出来。例如在一种称为 MS2 的 RNA 噬菌体中，与噬菌体吸附有关的 A 蛋白、噬菌体外壳蛋白和 RNA 复制酶的三个结构基因的核苷酸顺序的分析已获得成功。从图 15-4b 中所示的外壳蛋白中氨基酸顺序对照起来看，完全和表 15-3 中的密码相符合。

三、密码子是重迭的还是不重迭的

在一条 RNA 链上，三个连续的核苷酸决定一个氨基酸时是重迭的，还是不重迭的呢？例如在一条由 9 个核苷酸所组成的多核苷酸 CAGCAGCAG 中，以三个核苷酸为一单位，便可分划为三个单位，于是每一组，即每一个 CAG，代表一个氨基酸，这样就称为不重迭。如果在 CAGCAGCAG 中，CAG 代表一个氨基酸，AGC 代表另一个氨基酸，GCA 又代表另一个氨基酸……，这样就称为重迭。如果 CAG代表一个氨基酸，GCA、AGC 代表另外的氨基酸，这样也是重迭。

CAG CAG CAG　不重迭（aa 表示氨基酸）
aa_1 aa_1 aa_1

aa_2
CAG CAG CAG　重迭二个字母
aa_1 aa_3

aa_3
CAG CAG CAG　重迭一个字母
aa_1 aa_2

还没有发现过一次突变造成同一条肽链中两个邻接的氨基酸同时发生改变，也就是说从来没有由于一个核苷酸的改变而带来邻接的两个氨基酸的变化，所以认为密码是不重迭的。

1976 年对 ϕX174 DNA 的核苷酸顺序搞清楚以后，发现在另一种意义上密码有重迭现象。ϕX174DNA 由 5386 个核苷酸所组成，编码 9 种蛋白质。但是从 9 种蛋白质的分子量计算起来，DNA 中的核苷酸数目必须在 6000 个以上，为什么 5386 个核苷酸足够了呢？通

过蛋白质一级结构的分析，发现某些基因之间有重迭的现象，就是说同一段 DNA 以不同的相位编码几个不同的蛋白质。

下面表示 ϕX174 中 D、E、J 等基因重迭的情况：

D 蛋白……Val Glu Ala Cys Val Tyr Gly……Val Met D 终止
D 基因 GTT GAG GCT TGC GTT TAT GGT……GTG ATG TAA TG……
E 基因开始 AT G GT……G TG A TG TAA TG……
Met E 终止
J 基因开始 A TG
Met

四、密码的统一性

表 15-3 的密码子多数是用大肠杆菌作材料研究出来的，现在认为这张表对于各种生物都是适用的。用不同的细菌或高等动植物的无细胞抽提液作为蛋白合成的酶系统，加入多聚 U 作为人工信使，都有苯丙氨酸的参入；加入多聚 A 时有赖氨酸参入。说明细菌和高等动植物中的密码是一样的。此外如动物病毒可以在细菌细胞中增殖，也是密码统一性的证据。又如在蛙卵中注射入血红素和纯化的兔网织细胞的 9SmRNA 时，可以观察到兔血红蛋白的合成。说明两栖类的蛙和哺乳类的兔的密码是统一的。

第四节 信使 RNA

信使 RNA 简称 mRNA，是 DNA 的转录产物，起着传递遗传信息的作用。包含在 DNA 中的遗传信息必须通过 mRNA 才能体现为具有特异结构的蛋白质。mRNA 的含量仅占细胞内 RNA 总量的极小一部分。在 50 年代中曾有人用同位素标记方法证明细菌细胞中的噬菌体 mRNA 周转极快。噬菌体 T2 感染大肠杆菌时，约有 3% 的 RNA 很快地合成，但又迅速地分解，并且这种 RNA 中碱基比例与噬菌体 T2DNA 的比例非常相似，而与细菌 DNA 则不相似。这一事实说明噬菌体的基因组通过某种不稳定的 RNA 作为媒介，指导噬菌体蛋白质的合成，这种不稳定的 RNA 就是 mRNA。

原核生物中 mRNA 是 DNA 的直接产物。真核生物的 mRNA 则是在转录后加工而成。核内有一种不均一的 RNA(hnRNA)，被认为是 mRNA 的前体。在真核生物的病毒(如腺病毒)mRNA 和 hnRNA 的 5′ 端发现都有 m^7GPP 帽子，3′ 端都有多聚 A，说明 mRNA 和 hnRNA 之间有一定的关系。此外还发现腺病毒、鸡卵清蛋白、大鼠血清清蛋白等基因都是由若干个不编码的内含子 (intron) 和若干个编码的外显子 (exon) 相间隔组成，转录时将全部顺序转录为前体 mRNA，经加工后前体 mRNA 变为 mRNA，因此在转译时仅外显子转译为基因产物。

原核生物和真核生物的 mRNA 的寿命也显然不同。有人测定大肠杆菌乳糖操纵子 mRNA 的半衰期约为 2.0～2.5 分钟。在转译过程中，mRNA 随时被核糖核酸酶分解。真核生物的 mRNA 则远较细菌的 mRNA 为稳定，用不同的材料测得的半衰期大约在 1.5 小时到数十小时的范围内。这可能是由于细菌需要适应各种不同的环境，而在真核生物中，

特别是不在分裂的分化的细胞中，mRNA 是相当稳定的，例如在制造血红蛋白的网织细胞中，不能测出 RNA 的分解和合成，可能是由于在这样的专化细胞中，mRNA 没有必要分解后再行重新合成。

第五节　转运 RNA 和反密码子

已经知道 DNA 的复制是通过 A-T, G-C 之间的氢键配对方式，由 DNA 多聚酶催化而合成与原来模板相对应的另一条 DNA 链；RNA 的合成也通过同样的方式，所不同的是 DNA 模板上的 A 和 U 配对，即按照含有 AGCT 的 DNA 模板可以合成含有 UCGA 的 RNA。氨基酸是不能直接和碱基配对的。那么怎样可以正确无误地从信使 RNA 转译为蛋白质呢？有人曾设想也许可以通过一个核酸物质的媒介来解决这个问题。事实确是如此，合成蛋白质的直接原料并不是游离的氨基酸，而是氨基酸的衍生物，即是与一种分子量较小的 RNA 相结合的氨基酰 RNA。由于这种 RNA 携带了氨基酸，当 RNA 与密码子配对的时候，也就把氨基酸引导到一定的位置上去。这种 RNA 起着运输氨基酸的作用，所以称为转运 RNA，简称 tRNA。

一、tRNA 的结构与功能

tRNA 大都是由 75～85 个单核苷酸聚合而成的多核苷酸。含有很多稀有的核苷，如二氢尿嘧啶核苷、假尿嘧啶核苷、各种甲基化的核苷以及一般 RNA 中所没有的胸腺嘧啶核苷。tRNA 的平面结构很象一片三叶草的叶子，其中有些部分呈双链结构。tRNA 中 GC 对特别多，可能由于 GC 之间有三个氢键，因而更能保持二级结构的稳定性。最早是在 1965 年有人将酵母菌中所分离得到的一种携带丙氨酸的 tRNA 的核苷酸顺序全部分析清楚。由于顺序测定技术的进展，顺序完全弄清楚的 tRNA 已经愈来愈多，包括大肠杆菌、酵母菌、高等植物以及哺乳动物等。

表 15-5　稀有核苷的符号和全名

m^5C	5-甲基胞嘧啶核苷
m^2G	N^2-甲基鸟嘌呤核苷
m_2^2G	N_2-二甲基鸟嘌呤核苷
ψ	假尿嘧啶核苷(5-β-核糖尿嘧啶)
m^1I	1-甲基次黄嘌呤核苷
hU(或 DiHU)	5, 6-二氢尿嘧啶核苷
C_m	2′-O-甲基胞嘧啶核苷
G_m	2′-O-甲基鸟嘌呤核苷
U_m	2′-O-甲基尿嘧啶核苷

从许多已知结构的 tRNA 分子上，可以看到它们都具有这样几个共同的部分——四个环和一个接受氨基酸的臂(图 15-5)：

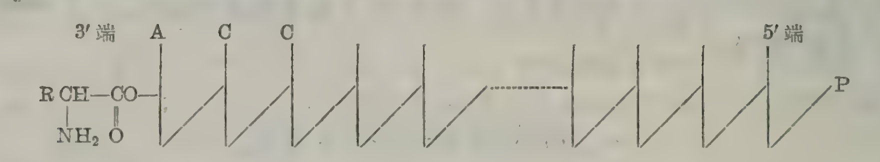
1）二氢尿嘧啶环：这环的大小大约都在 8～12 个核苷酸范围内，环内含有稀有碱基二氢尿嘧啶，与环相连的柄上有 3～4 个碱基对。

2）反密码子环：这个环一般都是由 7 个核苷酸组成，中间三个连续的核苷酸便是反密码子，例如大肠杆菌的携带苯丙氨酸的 tRNA（用符号 $tRNA^{phe}$ 表示）上有三个连续的核苷酸 5′GAA3′ 就是反密码子，根据配对原则可以和 UUC 配合，而 UUC 恰好是苯丙氨酸的密码子。携带其他氨基酸的 tRNA 上的反密码子都各不相同。柄上一般都有 5 个碱基对，反密码子的 5′ 端往往是 U，3′ 端往往是烷化的嘌呤。

3）可变环：各种 tRNA 中可变环的大小各不相同，有些含有 3 个、4 个或 5 个核苷酸，有些则含有 13 个、14 个或 15 个核苷酸。

4）TψCG 环：这个环一般都由 7 个核苷酸组成，都含有 5′TψCG3′ 的顺序，柄上一般有 5 个碱基对。

5）接受臂：各种 tRNA 接受臂的 3′ 末端都是 ACC 三个核苷酸。tRNA 所携带的氨基酸以氨基酰的形式通过酯键和腺嘌呤核苷(A)的 3′OH 相连接：



tRNA 分子上除接受臂和反密码子环的识别特性已经明确以外，其他各环的功能尚不明确，有人认为二氢尿嘧啶环可能和识别氨基酰 tRNA 合成酶有关；TψCG 环可能和识别核糖体上的位置有关，但都没有确切的证据。

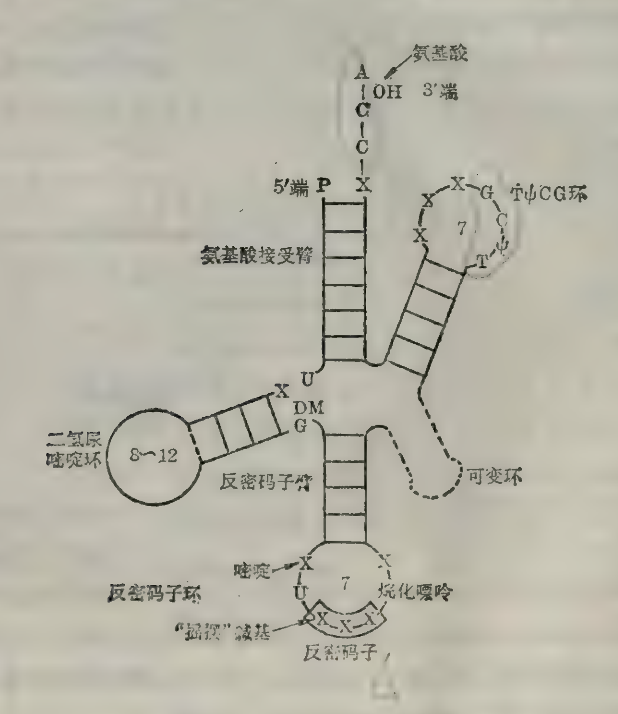


图 15-5 tRNA 结构模式图

二、密码子和反密码子的配对

从表 15-3 中可以看出一个特点，就是每一个密码子中的前两个碱基如有改变，则所代表的氨基酸也要随着改变，但第三个碱基变动时，则往往影响不大。例如 UUU 和 UUC 都代表苯丙氨酸，但如果 UUU 中间的 U 变为 C，即 UCU，代表的便是丝氨酸；又如第一个 U 变为 C，即 CUU，代表的便是亮氨酸。这说明 tRNA 上的反密码子的第三个碱基和密码子上第三个碱基的配对要求可以不很严格。离体实验证明确是如此，例如酵母菌的丙氨酸密码子 GC$\substack{U\\C\\A}$ 都可以和酵母 $tRNA^{ala}$ 的反密码子 5′IGC3′ 配对，可见 I（代表次黄嘌呤核苷）能识别 U、C 或 A。又如大肠杆菌的苯丙氨酸密码子 UU$\substack{U\\C}$ 可以和大肠杆菌 $tRNA^{phe}$ 的反密码子 5′GAA3′ 配对，G 可以识别 U 或 C。在前一例中出现了 I 与 U、C、A 之间的非标准配对方式；在后一例中出现了 G 和 U 的非标准配对方式。在 DNA 双螺旋中，G 和 C 是正常的配对方式，这里 G 和 U 虽然也可配对，不过它的空间构型显然和 GC 稍有不同，图 15-6 中可以看出在 GU 中两个核糖的位置是不对称的。所谓"摆动性概念"就是认为除标准的配对外，还可以有非标准的配对。按照这个概念，密码子的第三个碱基就可以有一定程度的灵活性，但也不是说可以任意组合，只限于表 15-6 中所列的组合。

标准配对　　　　非标准配对

图 15-6　摆动性概念图

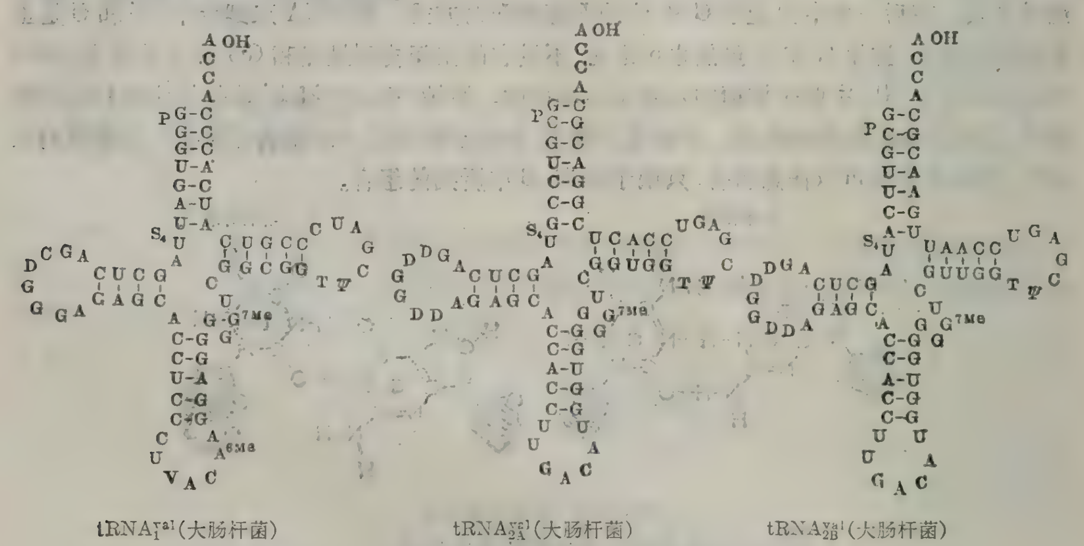
表 15-6　密码子与反密码子的配对

反密码子中的碱基	密码子中的碱基
G	U或C
C	G
A	U
U	A或G
I	A，U或C

I 与 C. A. U 的配对方式如下：

次黄嘌呤-胞嘧啶　　次黄嘌呤-腺嘧啶　　次黄嘌呤-尿嘧啶

按照摆动性概念来看，细胞内 tRNA 数目似乎可以大大地少于 61 种，但事实却并不如此，有人从大肠杆菌中已经分离出至少 56 种不同的 tRNA，其中不少都是属于同功的。就是说几种不同的 tRNA 都可以携带同一种氨基酸，例如携带缬氨酸的 tRNA 就有三种：tRNA$_{1}^{val}$、tRNA$_{2A}^{val}$ 和 tRNA$_{2B}^{val}$，它们的一级结构大同小异(图 15-7)。tRNA$_{2A}^{val}$ 和 tRNA$_{2B}^{val}$ 的反密码子相同，都是 5′GAC3′。离体实验证明这三种 tRNA 可以识别缬氨酸的密码子 GUC。tRNA$_{1}^{val}$ 的反密码子为 VAC(V 代表尿嘧啶核苷-5-氧乙酸，识别 A 和 G)，可以识别缬氨酸的密码子 GU$\frac{A}{G}$。对于为什么同一种氨基酸要有许多同功的 tRNA 这一问题，目前虽然没有确切的解释，但很可能解释为这是自然选择的结果，可以使生物避免发生过多的致死突变。由于 tRNA 的核苷酸顺序也是一部分 DNA 的核苷酸顺序的反映，结构基因的核苷酸顺序的改变一般只影响一种蛋白质，所以不一定致死，可是 tRNA 基因的核苷酸顺序的改变可以影响几乎所有的蛋白质，所以往往致死。因此如果一个生物只具备一种 tRNA，那么就很容易由于遭到突变而被淘汰。



tRNA$_{1}^{val}$(大肠杆菌)　　tRNA$_{2A}^{val}$(大肠杆菌)　　tRNA$_{2B}^{val}$(大肠杆菌)

图 15-7　大肠杆菌中携带缬氨酸的三种同功 tRNA

第六节　核　糖　体

核糖体(或称核糖核蛋白体)是存在于细胞质内的微小颗粒，用光学显微镜不能看到，它们是合成蛋白质的“车床”。细菌细胞内的核糖体都是游离分散的，在高等生物的细胞内除游离存在的以外，还有与含脂蛋白丰富的一层膜结合在一起的，组成粗糙内质网。核糖体由蛋白质和 RNA 组成。各种生物的核糖体中蛋白质含量大约为 40～50%，RNA 大约为 50～60%。核糖体 RNA，简称 rRNA。

核糖体由大小不同的两个部分所组成。例如大肠杆菌的核糖体由 50S 和 30S 两个亚基所组成，合并起来成为一个完整的核糖体。大分子物质在高速离心时的沉降速度主要是由分子量所决定，但也和分子的形状有关。沉降速度的单位用 S 表示。50S 核糖体亚基的分子量约为 1.8×10^6，30S 核糖体亚基的分子量约为 0.9×10^6。

核糖体的两个亚基的结合或解离与 Mg^{++} 浓度密切有关，当 Mg^{++} 浓度增加时，30S 和 50S 两个亚基趋向于结合，当 Mg^{++} 浓度减小时则趋向于解离(图 15-8)。

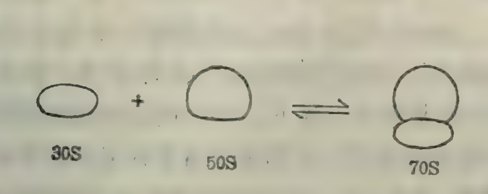


图 15-8　核糖体的结合和解离示意图

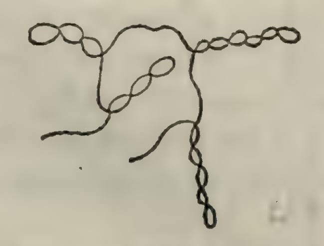
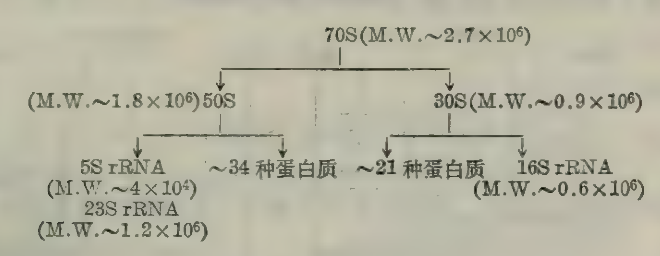


图 15-9　rRNA 结构示意图

真核生物的核糖体由 40S 和 60S 两个亚基所组成，合并起来成为一个 80S 核糖体。目前对大肠杆菌的核糖体研究得比较多。已经知道大肠杆菌核糖体的 30S 亚基是由一个 16S RNA (大约含有 1600 个核苷酸)和 21 种不同的蛋白质所组成; 50S 亚基是由一个 5S RNA (含有 120 个核苷酸)，和一个 23S RNA (含有约 3200 个核苷酸)以及 34 种不同的蛋白质所组成。5S RNA 的顺序已经弄清楚，16S RNA 和 23S RNA 的顺序还正在研究中。rRNA 为单链，但也有部分呈双链的发夹形结构(图 15-9)。



第七节　蛋白质合成步骤

一、多肽是从 N 末端开始逐步形成的

多肽形成有两种可能的方式: (1)氨基酸先行排列在 mRNA 模板上，然后象拉链一样，一下就连接起来形成一条完整的多肽; (2)氨基酸逐一加上，先形成二肽、三肽……最后形成一条完整的多肽。实验证明多肽是通过第二种方式从 N-末端开始，逐步形成的。

网织细胞是未成熟的红血球，血红蛋白就在网织细胞内合成。用家兔的网织细胞在含有氚标记亮氨酸的培养液中培养，将分离得到的血红蛋白用胰蛋白酶水解成为许多小肽，通过指纹法分析定出标记氨基酸在各种小肽内的分布情况。结果表明培养时间短的样品中靠近 N 末端的小肽与靠近 C 末端的小肽内标记氨基酸分布不均匀，即 N 末端标记氨基酸少，C 末端标记氨基酸多。随着培养时间增长，分布趋向于均匀(图 15-10)。

这一实验足以支持多肽合成是从 N 末端开始逐步合成的。如果氨基酸预先在 mRNA 上排列好，那么标记氨基酸在肽链上的分布应该是均匀的，而且与培养时间长短无关。可是从图 15-10 上却可以看到培养时间较短(4 分钟)时，在 C 末端的肽段上标记氨基酸较多。可以想象在任何时间细胞内都存在着一系列长短不等的、正处在合成过程中的多

肽。培养时间较短时标记大多出现在C末端这一事实说明肽链的合成必然从N末端开始，而且通过氨基酸逐一连接上去这一方式进行。

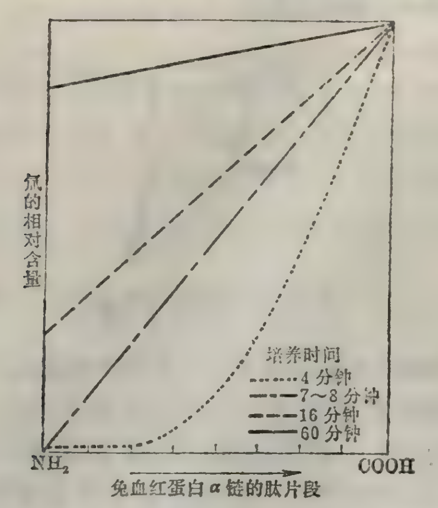


图15-10　兔血红蛋白α链上标记氨基酸的分布

图15-11为多肽从N末端开始逐步合成的模型。多肽在核糖体上进行合成，完成以后，从核糖体上脱下。当时间为t_1还没有加入标记氨基酸时，核糖体上有不标记的未完成的肽链(直线表示不标记的氨基酸)。当时间为t_2时，加入的标记氨基酸已经逐渐参入到正在继续合成中的多肽分子上(~~~~表示标记氨基酸)。这些多肽中有些已经完成，有些尚未完成(R表示尚未完成的肽链)。已经完成的多肽从核糖体上脱下。时间为t_2时，脱下的两条多肽中的一条上，标记集中在g、f肽段内，另一条上标记集中在g肽段内。随着培养时间增长，脱下的已完成的肽链上的标记渐趋一致，如时间t_4所表示的。

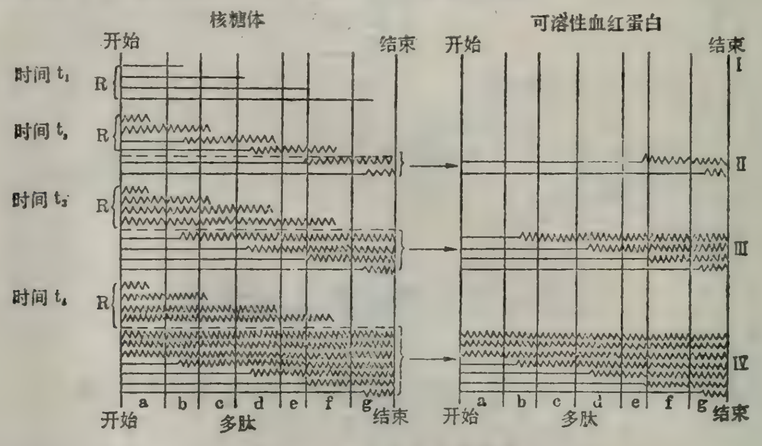


图15-11　多肽合成模型图

二、氨基酰-tRNA的合成

合成蛋白质的直接前体是氨基酰-tRNA，而不是游离的氨基酸。氨基酸通过氨基酰-tRNA合成酶(以下简称合成酶)的催化作用，从ATP获得能量，然后和tRNA相连接，形成蛋白质合成的直接原料氨基酰-tRNA。

$$\underset{\displaystyle |\atop NH_2}{RCHCOOH}+ATP+\text{合成酶}\rightleftharpoons\text{氨基酰}\sim AMP\cdot\text{合成酶}+PPi \quad (1)$$

$$\text{氨基酰}\sim AMP\cdot\text{合成酶}+tRNA\rightleftharpoons\text{氨基酰-}tRNA+\text{合成酶}+AMP \quad (2)$$

(1)+(2)

$$\underset{\displaystyle |\atop NH_2}{RCHCOOH}+ATP+tRNA\xrightleftharpoons{\text{合成酶}}\text{氨基酰-}tRNA+AMP+PPi$$

细胞内 tRNA 的数目很多，携带同一种氨基酸就有好几种不同的 tRNA。那么是不是对于每一种 tRNA 就要有一种合成酶呢，还是携带同一种氨基酸的几种 tRNA 可以用同一种合成酶？这个问题还不能作最后的肯定。根据目前的资料看来，至少在细菌中对于同一种氨基酸只有一种合成酶。这个酶对于携带这一氨基酸的种种 tRNA 都有作用，不管这些 tRNA 是具有不同的反密码子或是反密码子虽然相同而一级结构不同。例如大肠杆菌至少有五种携带亮氨酰的 tRNA，但同一个亮氨酰-tRNA 合成酶对这五种 tRNA 都有催化作用；五种携带丝氨酰的 tRNA 也同样可以被同一个丝氨酰合成酶所催化，不过不同的 tRNA 和酶的亲和力并不完全一样罢了。

在细菌生长过程中可以人为地使它将一些氨基酸类似物（例如对-氟苯丙氨酸、乙硫氨酸等）参入蛋白质，一方面说明氨基酰合成酶可以和正常的氨基酸结合，也可以和氨基酸的类似物结合；另一方面也说明在转译时 tRNA 对于 mRNA 的识别只和 tRNA 上的反密码子有关，和所带的氨基酸无关。曾经有人将 ^{14}C 标记的半胱氨酰 tRNA 氧化成磺基丙氨酸，然后将此物加到能离体合成血红蛋白的兔网织细胞制剂中，发现合成的血红蛋白中磺基丙氨酸代替了半胱氨酸。

$$HSCH_2\underset{\underset{NH_3^+}{|}}{C}HC(=O)—tRNA \xrightarrow{\text{过甲酸}} {}^-O—S(=O)_2—CH_2\underset{\underset{NH_3^+}{|}}{C}HC(=O)—tRNA$$

三、核糖体上进行多肽合成

按照 mRNA 上的密码在核糖体上转译为多肽的过程，可以人为地划分为起译、接肽和终止三个阶段。

1. 起译

起译是指肽链合成的开始。

(1) *起译密码子* mRNA 是由许许多多连续的三联体所组成。如果转译可以从任何一个三联体开始，那么势必会译出许多没有意义的“破句”。但事实并不是这样，每个细胞中的每一种蛋白质都具有相同的一级结构。这样看来，mRNA 上一定有某一种决定翻译从此开始的起译讯号。现在已经知道决定甲硫氨酸和决定缬氨酸的密码子就是起译密码子，即 AUG 和 GUG。并且还证实在大肠杆菌内标志着起译的密码子 AUG 所编码的氨基酸并不是甲硫氨酸本身，而是甲酰甲硫氨酸；同样标志着起译的密码子 GUG 所编码的氨基酸也不是缬氨酸，也是甲酰甲硫氨酸。当多肽完成以后，通过酶的作用将甲酰基水解切去，成为以甲硫氨酸为 N 末端的多肽，这是一种可能；另一种可能便是把甲酰甲硫氨酸（或连同几个氨基酸）水解切去，成为不是以甲硫氨酸为 N 末端的多肽。以上这些结论是由下面的一些实验结果得来的。

大肠杆菌的蛋白质的氨基酸顺序虽然各式各样，但它们的 N 末端氨基酸却只有少数几种：以甲硫氨酸开始的占 45%，以丙氨酸开始的占 30%，以丝氨酸开始的占 15%。这个事实说明代表甲硫氨酸的密码子 AUG 可能是一个起译的讯号，但是不能说明为什么还有不少以甲硫氨酸以外的氨基酸开始的蛋白质。

在研究 tRNA 时发现有两种可以携带甲硫氨酸的 tRNA，即 $tRNA_m^{met}$ 和 $tRNA_f^{met}$。后一

种 tRNA 在携带了甲硫氨酰基 (met-$tRNA_f^{met}$) 以后可以通过转甲酰作用，形成甲酰甲硫氨酰-tRNA(fmet-$tRNA_f^{met}$)，而前一种 $tRNA_m^{met}$ 在携带了甲硫氨酰以后不能再进行甲酰化。大肠杆菌的两种 $tRNA^{met}$ 的一级结构已经确定，它们的顺序不完全相同，但反密码子都是 CAU，与密码子 AUG、GUG 都可以配对。在大肠杆菌细胞中，$tRNA_f^{met}$ 约占70%，$tRNA_m^{met}$ 约占30%。但是为什么细胞内 $tRNA_f^{met}$ 的量很多，而蛋白质的N末端又并不是甲酰甲硫氨酸呢？推测在起译时可能是由甲酰甲硫氨酰-tRNA 识别 AUG，在完成多肽以后，再将甲酰基切去，形成以甲硫氨酸为N末端的多肽，或者再分解掉甲硫氨酸，而以下一个氨基酸作为N末端。这一推测得到下述事实的支持。

有人用离体的系统，以噬菌体 R17 的 RNA 作为模板合成噬菌体的外壳蛋白，发现这蛋白的N末端为 N-甲酰甲硫氨酸，第二个氨基酸为丙氨酸，而天然的 R17 的外壳蛋白的N末端却是丙氨酸。说明在细胞内合成时，前面可能也有甲酰甲硫氨酸，不过在某一阶段中被水解除去。以后有人发现细菌中确实有一种脱甲酰酶和一种氨肽酶，当这两种酶同时存在时，才能使离体合成的噬菌体 R17 的外壳蛋白片段的末端释放出甲硫氨酸。这说明N末端是甲酰甲硫氨酸，必须先通过脱甲酰酶将甲酰甲硫氨酸的甲酰基除去后，再通过氨肽酶切下N末端的甲硫氨酸。同时也说明不是以甲硫氨酸为N末端的蛋白质也是用 AUG 作为起译讯号的。

此外甲硫氨酸的氨基上接上甲酰基或许可以理解为对于氨基起着保护作用，使第二个氨基酸定向地接在甲硫氨酸的羧基上。

用人工合成的多聚 (UG) 作为mRNA 的实验结果，说明除了 AUG 以外，GUG 也是代表甲酰甲硫氨酸的起译密码。多聚 (UG) 模板是 UGUGUGUGUG…… 或 GUGUGUGUGU……，GUG 代表的是缬氨酸，UGU 代表的是半胱氨酸，所以用多聚 UG 为模板所合成的多肽应该是半胱·缬·半胱·缬…… 或 缬·半胱·缬·半胱…，可是实际上所得到的多肽是甲酰甲硫·半胱·缬·半胱……，可见转译从 GUG 开始，而且 GUG 在起译时不代表缬氨酸而代表甲酰甲硫氨酸，只有在肽链内部时才代表缬氨酸。

上面的一些事实果然说明 AUG 和 GUG 是起译密码，但从图 15-12 中噬菌体 R17 的 RNA 局部顺序上看来，在外壳蛋白基因的二个终止密码之后紧接着的 AUG 却并不表示起译，相隔了10个三联体之后的 AUG 才是合成酶基因的起译讯号。可见起译并不单靠 AUG，可能是由 AUG 和它前面的几个核苷酸合在一起时才能决定起译。

丙-天冬酰胺-丝-甘-异亮-酪 终止 终止
GCA AAC UCC GGU AUC UAC UAA UAG AUG CCG
外壳蛋白

f甲硫-丝-赖-苏-苏-赖
GCC AUU CCA ACA UGA GGA UUA CCC AUG UCG AAG ACA ACA AAG
RNA 复制酶开始

图 15-12 噬菌体 R17 的 RNA 局部顺序

以上所说的都是在原核生物中的情况，真核生物的起译与原核生物并不完全一样，但也有两种性质不同的携带甲硫氨酸的 tRNA。一种用于起译，一种用于内部。不过用于起译的 tRNA 在携带了甲硫氨酸之后不须甲酰化，但在离体条件下可被大肠杆菌的转甲酰化酶所甲酰化。

(2) mRNA 和核糖体结合或转译开始　大肠杆菌的核糖体由30S和50S两个亚基所组成，但和起译有关的只是30S亚基。在起译时 fmet-$tRNA_f^{met}$ 和 mRNA、30S 核糖体亚基的复合体相结合。但如果要使其他氨基酰-tRNA(包括 met-$tRNA_m^{met}$)结合上去时，则必须要有50S亚基参加。这也说明为什么 fmet-$tRNA_f^{met}$ 只与起译有关，同时也说明 met-$tRNA_m^{met}$ 虽然也用同一密码，但只能在 mRNA 内部的位置上起作用。

fmet-$tRNA_f^{met}$ 或其他氨基酰-tRNA 与核糖体的结合是发生在核糖体的特定的位置上。核糖体上有两个位置，一个称为受位或氨基酰位(用 A 表示)，另一个称为供位或肽位(用 D 或 P 表示)。受位是指接受 fmet-tRNA 或氨基酰-tRNA 的位置，供位是指对 A位上提供氨基酰或肽基的位置(图 15-13)。

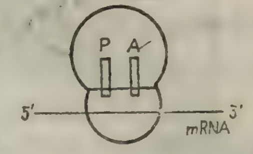


图15-13　核糖体示意图

fmet-$tRNA_f^{met}$、mRNA、30S 亚基三者结合时还需要三种蛋白质因子 F_1、F_2、F_3(或用 f_1、f_2、f_3 表示)和提供能量的 GTP 参与。F_1、F_2、F_3 称为起译因子。

图 15-14 为蛋白质生物合成示意图，从 A→E 表示起译过程。

2. 接肽

接肽是指起译以后其他氨基酸连接上去的过程。这个过程包括结合、转肽、移位等三个步骤。

(1) 结合　对应于 mRNA 上第二个密码子的氨基酰-tRNA(aa-tRNA)进入 A 位与核糖体结合，这是一个需能的反应，GTP 是直接能源。此外还需要两个蛋白质因子 Tu 和 Ts 参与作用。Ts 对热稳定，Tu 对热不稳定。Ts、Tu 和下面提到的移位酶 G 统称为肽链延伸因子。结合反应如下：

$$\text{Tu—GDP+Ts} \rightleftharpoons \text{Tu—Ts+GDP}$$

$$\text{Tu—Ts+GTP+aa-tRNA} \rightleftharpoons \text{aa-tRNA—Tu—GTP+Ts}$$

$$\text{aa-tRNA—Tu—GTP} \xrightleftharpoons{\text{mRNA,核糖体}} \text{aa-tRNA—mRNA—核糖体+Tu—GDP+P}_i$$

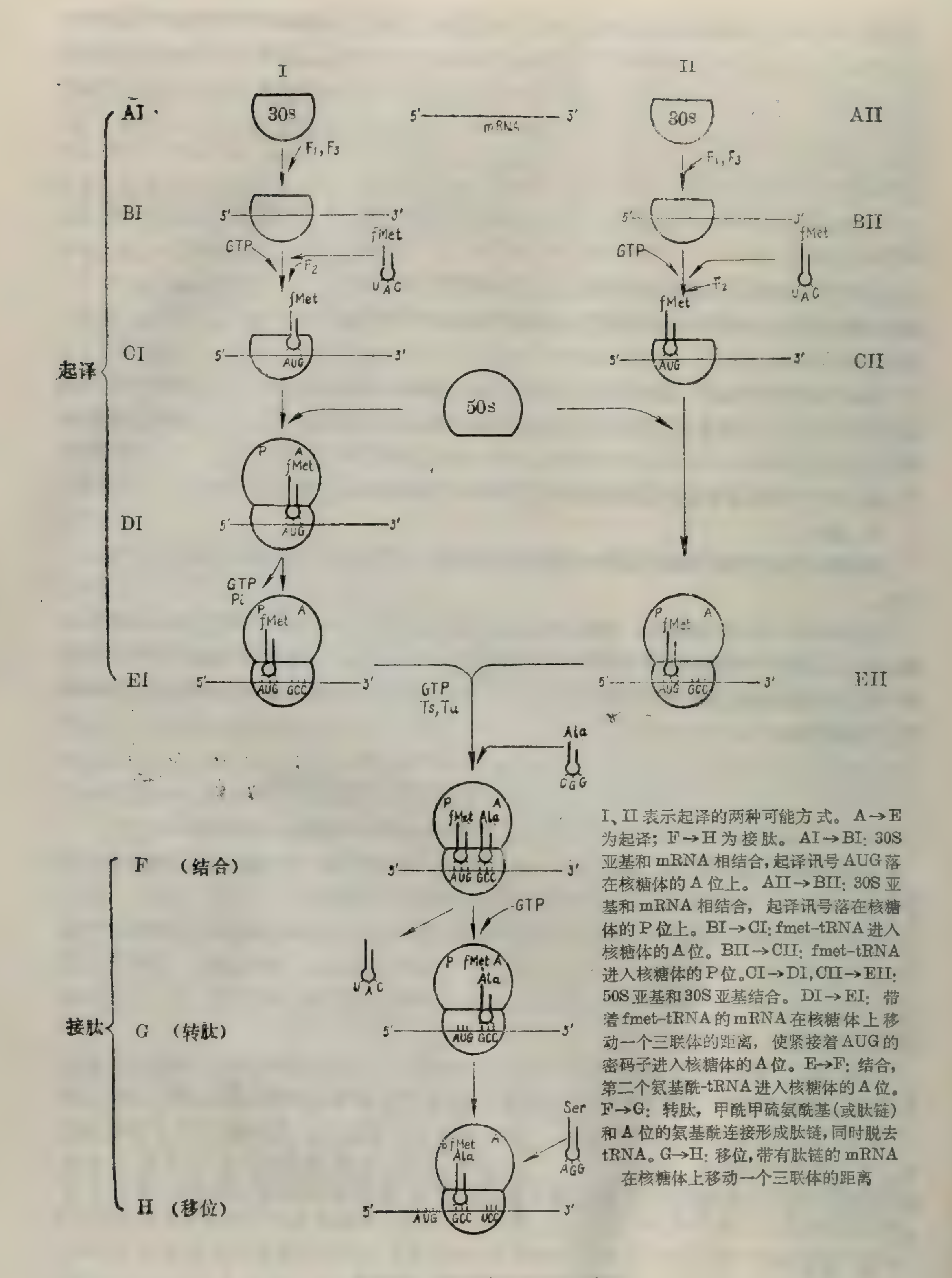
有人发现 fmet-$tRNA_f^{met}$ 和其他 aa-tRNA 不同，不能和 Tu、Ts 结合，这也是对于为什么 fmet-$tRNA_f^{met}$ 只能用于起译而不能用于肽链内部的一种解释。

(2) 转肽　结合过程一旦完成立即进行转肽。通过肽基转移酶的催化使P位上的 fmet-tRNA(肽基-tRNA)转到 A 位上的 aa-tRNA 的游离氨基上，形成肽键，并释放出原来在P位上的 tRNA。这个反应不需能量。肽基转移酶是 50S 核糖体亚基上的一个蛋白质组分。

(3) 移位　核糖体从 mRNA 的 5′ 向 3′ 方向移动一个三联体的距离，于是携带着肽基的 tRNA 连同 mRNA 从核糖体的 A 位移到 P 位，这个过程称为移位，由移位酶(或称 G 因子)催化，并必须有供能的 GTP 参与。G 因子具有 GTP 酶活力，能催化 GTP 分解放出能量。由于核糖体的移动，原来在 A 位上的肽基-tRNA 已经移到P位，于是第三个密码子进入 A 位，等待着第三个 aa-tRNA 进入。图 15-14 的 F→H 表示接肽中的三个步骤。

3. 终止

表 15-3 中载有三个称为终止密码子也称为无意义密码子的三联体，即 UAA、UAG 和



I、II 表示起译的两种可能方式。A→E 为起译；F→H 为接肽。AI→BI：30S 亚基和 mRNA 相结合，起译讯号 AUG 落在核糖体的 A 位上。AII→BII：30S 亚基和 mRNA 相结合，起译讯号落在核糖体的 P 位上。BI→CI：fmet-tRNA 进入核糖体的 A 位。BII→CII：fmet-tRNA 进入核糖体的 P 位。CI→DI，CII→EII：50S 亚基和 30S 亚基结合。DI→EI：带着 fmet-tRNA 的 mRNA 在核糖体上移动一个三联体的距离，使紧接着 AUG 的密码子进入核糖体的 A 位。E→F：结合，第二个氨基酰-tRNA 进入核糖体的 A 位。F→G：转肽，甲酰甲硫氨酰基（或肽链）和 A 位的氨基酰连接形成肽链，同时脱去 tRNA。G→H：移位，带有肽链的 mRNA 在核糖体上移动一个三联体的距离

图 15-14　蛋白质合成过程示意图

UGA，它们的作用是使肽链合成终止，多肽从核糖体上释放出来。在接肽过程中，当核糖体在 mRNA 上移动而使终止密码进入到 A 位时，肽链合成便自然停止。实验证明并没有某种不带氨基酰的 tRNA 和终止密码配对，在接肽过程到达终止密码子时，也没有任何特定的氨基酰-tRNA 接上去，这时接肽作用便自动停止。

有人用噬菌体 f_2 突变型的 RNA，在离体系统中作为多肽合成的信使。这个突变型的 RNA 上第 7 个密码子已突变为 UAG，系统中所加入的 tRNA 只限于前面六个密码子所需的 tRNA，便可以得到游离的六肽，说明肽链终止时，并不需要什么特殊的 tRNA。

大肠杆菌中 300～400 个氨基酸的多肽大约只需 10～20 秒钟便可合成。许多蛋白质的多肽链在合成过程中已经开始卷曲形成特定的空间构型，并不一定要从核糖体上脱下以后才形成这种高级结构。核糖体上可以测出少量酶的活力足以支持这个观点。

已经完成的多肽链从核糖体上释放出来还需要释放因子(或称 R 因子)和能源 GTP。R 因子由二个酸性蛋白 R_1 和 R_2 所组成。R_1 对于终止密码 UAA 和 UAG 有效，R_2 对于 UAA 和 UGA 有效。R 因子的作用是使多肽与 tRNA 之间的酯键发生水解作用释放肽链，tRNA 则仍留在核糖体上，可能还要通过另外一个 tRNA 释放因子才能促使 tRNA 从 70S 核糖体上释放出来。完成了多肽的 70S 核糖体在解离因子的作用下分解为 30S 和 50S 两个亚基，重新再参加起译、接肽、终止三个步骤，合成新的多肽。

四、多聚核糖体

在电子显微镜下可以观察到细胞内存在有几个核糖体串联在一起的结构，这个结构称为多聚核糖体。多聚核糖体最早是在积极合成血红蛋白的家兔网织细胞中观察到的。用核糖核酸酶处理，多聚核糖体的结构破坏，游离出单个核糖体。可见多聚核糖体是正在进行转译中的几个核糖体与 mRNA 联系在一起的结构，家兔网织细胞中的多聚核糖体是由 5～6 个核糖体组成，在细菌中则由 4～20 个核糖体组成，在个别例子中也有多到由 100 个核糖体组成(例如与细菌的色氨酸合成酶有关的多聚核糖体)。图 15-15 表示多聚核糖体与蛋白质合成的关系。在蛋白质合成开始时，核糖体与 mRNA 上的起译密码子结合，然后沿着 mRNA 移动，根据 mRNA

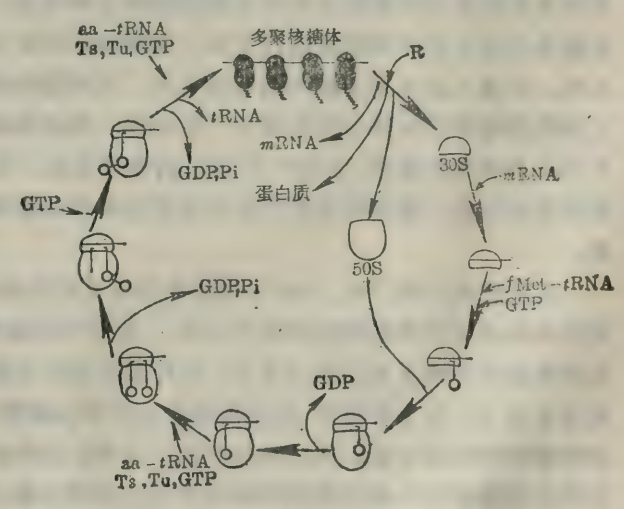


图 15-15　多聚核糖体与蛋白质合成的关系

上所携带的信息，连续接受各种氨基酰-tRNA，构成尚未完成的肽链。当这一核糖体移动到一定距离后，第二个核糖体又可以和这条 mRNA 的起译密码子结合，重复接肽的过程。因此在同一条 mRNA 上同时存在着几个或几十个核糖体，同时进行蛋白质的合成，形成多聚核糖体的结构。通过这种方式合成蛋白质，对生物来讲是合乎经济原则的，因为在这里一条

mRNA 的信息可以同时用来合成若干蛋白质分子。细胞内 mRNA 的含量只有 RNA 总量的 2% 左右，如果蛋白质合成不是通过这种方式的话，恐怕细胞中 mRNA 的含量将远远超过这一数值。

生物体内蛋白质的合成无疑地都是通过转录和转译而进行的，但还有某些小肽却并不是这样合成的，在合成过程中无需核糖体 mRNA、tRNA 参与，研究得比较深入的有短杆菌肽和短杆菌酪肽的生物合成，在合成过程中只不过有两种或三种酶和 ATP 参与。

第八节　抗菌素作用和蛋白质合成的关系

自从 1929 年发现了青霉素的抗菌作用后，陆续发现了许多有效的抗菌素，如链霉素、四环素、红霉素、庆大霉素、利福平等。几十年来这些抗菌素在医疗事业上起了很大的作用，近年来又发展到用在农业上防治植物病害，例如用春雷霉素防治稻瘟病、井岗霉素防治水稻纹枯病等。抗菌素为什么能够选择性地杀害病原菌，而对寄主没有损害或没有严重的损害？它们的作用机制是怎样的？抗性的机制又是怎样的？近年来这方面的研究较多，已经知道目前常用的抗菌素的作用机制不少都与核酸、蛋白质的合成有关。

利福平的作用是影响 RNA 多聚酶的核心部分，使它不能和起动因子(σ)结合，从而使新的 RNA 合成不能发动，但它不影响已经起动的 RNA 的延伸。实验证明大肠杆菌的抗利福平菌株的 RNA 多聚酶的 β-链的电泳性质和原来敏感型的不同。此外，用 ^{14}C 标记的利福平做实验，证明利福平能和正常的 RNA 多聚酶结合，但不能和抗性菌株的 RNA 多聚酶结合。可见抗性是由于 β-链结构改变的结果。

链霉素能与核糖体 30S 亚基上的蛋白质 S12 结合，从而影响蛋白质的合成。用大肠杆菌为材料的离体实验证明 S12 对蛋白质的起译有关。在蛋白质合成系统中，用缺乏 S12 的核糖体代替正常的核糖体进行研究，发现缺乏 S12 的核糖体不能和 fmet-$tRNA_f^{met}$ 结合。此外，也有人认为 S12 除与起译有关外，还可能和转译的正确性有关。用多 U 作为人工信使和链霉素敏感型的核糖体一起培养，观察多肽合成情况，发现有异亮氨酸(密码为 AUU) 代替苯丙氨酸(密码为 UUU) 的错误发生，但如用链霉素抗性菌株的核糖体时，则错误很少发生。推测链霉素的作用可能是由于和核糖体结合导致 mRNA 模板变形的结果。

以上这两个例子中，利福平通过抑制转录而抑制细菌的蛋白质合成，链霉素则通过抑制或影响转译而抑制细菌的蛋白质合成。其他许多抗菌素也具有类似的作用，例如氯霉素的作用机制与 50S 亚基的结合有关，四环素与 30S 亚基的结合有关，春雷霉素也与 30S 亚基的结合有关。至于青霉素、制霉菌素等的作用机制则并不是影响蛋白质合成，而是抑制细菌的细胞壁物质的合成。抗菌素的作用机制和抗药性机制研究对于合理使用抗菌素、设计半合成新抗菌素以及新抗菌素的筛选等都有积极的意义。

此外，嘌呤霉素虽然不是临床上应用的一种抗菌素，但是在蛋白质合成的研究中有一定意义。嘌呤霉素的结构和氨基酰-tRNA 一端的结构非常相似(图 15-16)，很容易和核糖体的 A 位结合。肽基转移酶也能催化肽基转移到嘌呤霉素分子上的反应，但肽基-嘌呤霉素和核糖体的结合不牢固，容易脱下形成长短不一的未完成肽基-嘌呤霉素，从而推断蛋白质的合成过程。

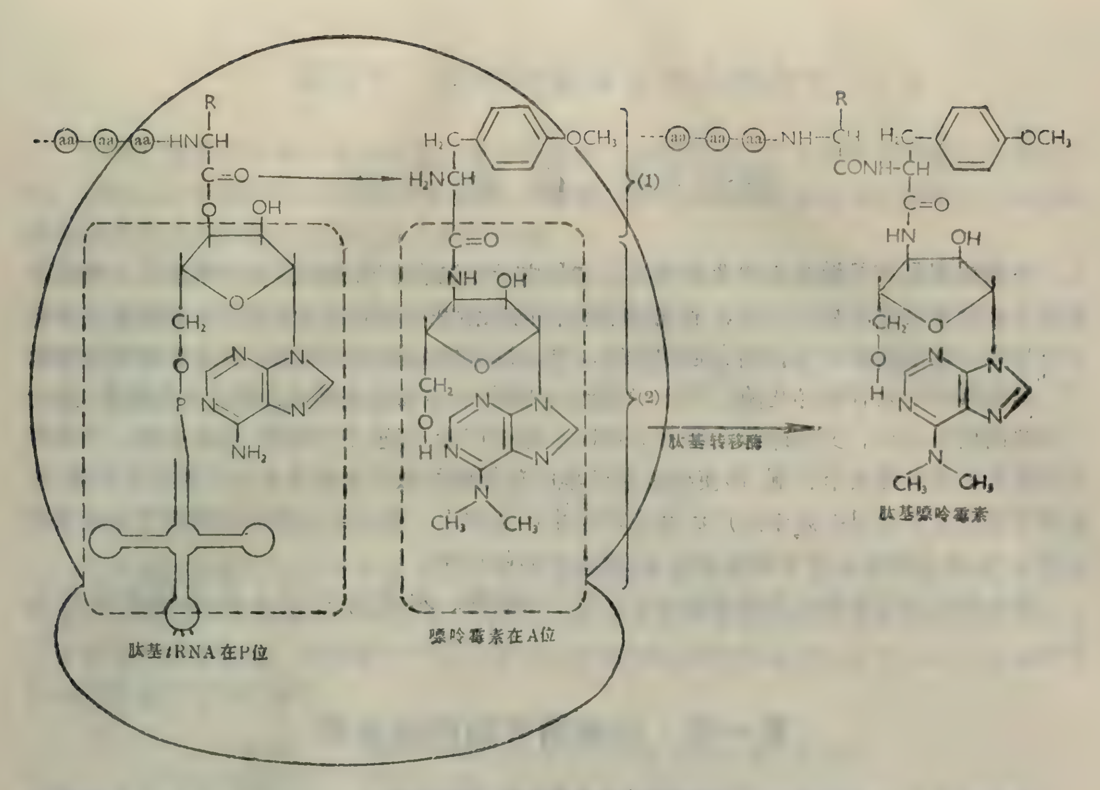


图 15-16 嘌呤霉素的作用机制

第十六章　代谢调节

生物体都具有灵敏的自我调节作用，这是由于生物在长期演化过程中形成了一套完备的调节机制来适应环境的结果。高等动物体内的激素在中枢神经的控制下，对新陈代谢起调节作用。例如动物需要付出大运动量时，肾上腺素的分泌大大增加。肾上腺素的分泌激活了细胞膜中的腺苷酸环化酶，形成 cAMP。cAMP 一方面促进糖元分解，产生能量，另一方面抑制糖元合成。又如雌性动物在分娩时分泌催产素，促进子宫收缩，加速分娩。不仅高等动物具备很好的调节机制，即使构造最简单的单细胞的微生物也具备良好的调节系统。代谢调节的理论目前已经愈来愈广泛地应用到生产实践上，例如可以根据代谢调节理论考虑发酵条件，或选育失去调节的菌种，从而提高产品的产率。

微生物的调节作用已经可以从分子水平上来解释。本章着重讨论微生物的调节作用。

第一节　代谢调节的两种类型

代谢调节是指细胞内的代谢速度按照生物的需要而改变的一种作用。它保证了细胞内的小分子物质既不过多地产生也不缺乏。这些小分子物质都是通过酶的催化作用而形成的，所以归根到底，酶是代谢调节作用中的关键。代谢调节包括分解代谢的调节和合成代谢的调节。最近十多年来陆续发现不少有关代谢调节的例子中，可以归纳为两种类型：反馈抑制和阻遏。

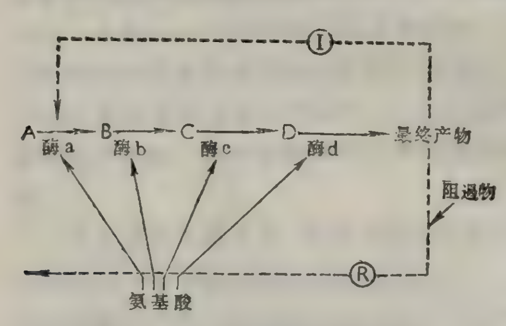


图 16-1　反馈抑制和阻遏示意图

图 16-1 表示反馈抑制和阻遏两种调节机制。最终产物是指细胞内的氨基酸、嘌呤、嘧啶等。这些小分子物质先经过一系列的生化反应而形成，然后再进一步合成蛋白质、核酸等大分子物质。当细胞内最终产物的浓度相当高时，最终产物就对合成过程中的某一个酶起了抑制作用，这种抑制称为反馈抑制(图中用 I 表示)。最终产物或最终产物的衍生物还可以通过和细胞内早已存在的阻遏物结合，从而对小分子物质合成过程中各个酶的形成起了阻遏作用，使这些酶的合成速度降低，或者根本不能合成(图中用 R 表示)。反馈抑制中最终产物大多作用于代谢过程中的第一个酶，在阻遏中则往往作用于过程中的各个酶。

在以上两种调节作用中，反馈抑制的效果比较直接而快速。当最终产物的浓度达到一定水平时，立即使酶的活力暂时丧失，待最终产物的浓度降低后，酶的活力又重新恢复。阻遏是对酶的合成的抑制，所以效果就不如前者那样迅速。许多代谢过程中，阻遏和反馈抑制两种调节机制往往同时存在，这就更加保证了细胞内代谢作用的调节。

第二节　分支代谢调节的几种方式

分支代谢是指代谢过程中途分支进行的现象，也就是说一个前体可以形成几个最终产物，例如从天冬氨酸形成赖氨酸、苏氨酸、甲硫氨酸的代谢过程。此外如色氨酸、苯丙氨酸、酪氨酸的合成过程也是典型的分支代谢过程。

就反馈抑制来讲，在不分支的单线合成代谢过程中，最终产物对第一个酶的抑制可以成为一个完善的调节系统。但是在分支代谢途径中，如果几种最终产物中的一种最终产物过多时就抑制了第一个酶，这样就会影响到其他几个最终产物的形成。因此在漫长的进化过程中，形成了分支代谢所特有的以下几种调节机制。

一、协 同 调 节

几个最终产物(图 16-2 中的 E、G、H)同时过多才能对第一个酶发生抑制作用，称协同调节。不少微生物都具备这种协同调节作用，例如萤光假单胞菌的天冬氨酸代谢过程中的第一个酶天冬氨酸激酶，受到最终产物苏氨酸和赖氨酸的反馈抑制(图 16-3，16-4)，是属于协同调节的类型(表 16-1)。

表 16-1　最终产物对萤光假单胞菌的天冬氨酸激酶的协同调节作用

加或不加最终产物	天冬氨酸激酶的相对活力
不　加	100
L-苏氨酸(5 m*M*)	110
L-赖氨酸(5 m*M*)	112
L-苏氨酸(5 m*M*)+L-赖氨酸(5 m*M*)	4

不但反馈抑制有协同调节的现象，阻遏也有这种现象，例如大肠杆菌的天冬氨酸激酶、高丝氨酸脱氢酶等酶的合成都被苏氨酸和异亮氨酸同时存在所阻遏。协同调节可以保证在分支代谢过程中不至于因为一个最终产物的过多而造成所有其他最终产物的缺乏。

二、同 功 酶 调 节

同功酶是指能催化同一生化反应，但酶蛋白结构有所不同的几个酶。这种结构差异往往能在电泳性质上反映出来。在分支代谢过程中，在分支点之前的一个较早的反应若由几个同功酶所催化时，分支代谢的几个最终产物往往分别对这几个同功酶发生抑制作用，从而起到和协同调节相同的功效。这种调节方式称为同功酶调节。图 16-5 中 A→B 的反应由三个同功酶 a、b、c 所催化，它们分别为最终产物 E、G、H 所抑制。同功酶之所以能起调节的作用，可能是由于一种最终产物过多时只能抑制一部分酶的活力，不至于影响其他几个最终产物的形成。

仍以天冬氨酸代谢为例，在大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌中确实存在三种同功的天冬氨酸激酶 AKI、AKII 和 AKIII，它们分别被苏氨酸、甲硫氨酸和赖氨酸所抑制(图 16-6)。

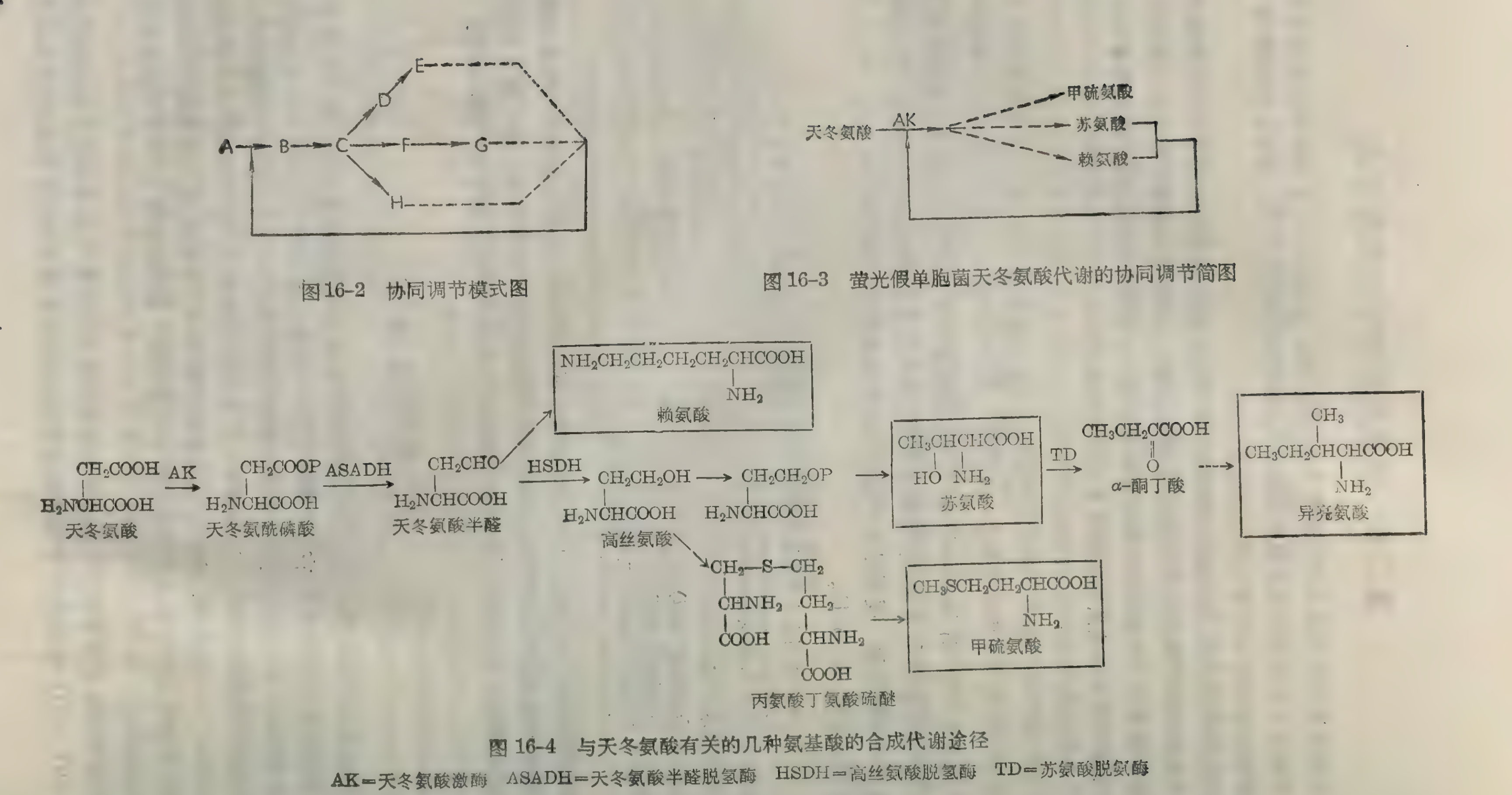


图 16-2　协同调节模式图

图 16-3　萤光假单胞菌天冬氨酸代谢的协同调节简图

图 16-4　与天冬氨酸有关的几种氨基酸的合成代谢途径

AK＝天冬氨酸激酶　ASADH＝天冬氨酸半醛脱氢酶　HSDH＝高丝氨酸脱氢酶　TD＝苏氨酸脱氨酶

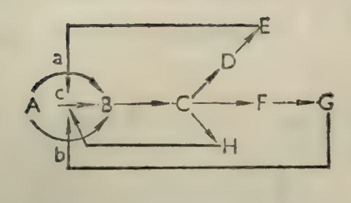


图 16-5　同功酶调节模式图

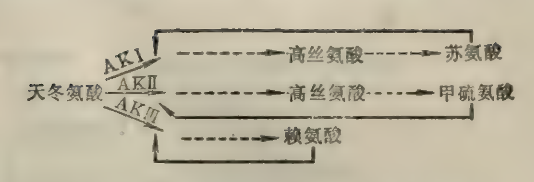


图 16-6　天冬氨酸代谢的同功酶调节简图

除了代谢过程中的第一个酶 (AK) 有三种同功酶以外，还发现有二个而不是三个同功的高丝氨酸脱氢酶 HSDHI 和 HSDHII。这和赖氨酸合成过程中不需要高丝氨酸脱氢酶参与这个事实也正好是符合的。

此外，遗传学研究指出突变使 AKI 和 HSDHI 的活力同时丧失，回复突变后两个酶的活力又同时恢复，说明 AKI 和 HSDHI 为同一个蛋白。这样就更有利于对苏氨酸合成代谢过程的控制，因为细胞内最终产物苏氨酸的浓度高时，这两个酶的活力同时可被抑制。

三、累 积 调 节

几个最终产物中任何一个产物过多时都能对某一酶发生部分抑制作用，但要达到最大效果，则必须几个最终产物同时过多，这样的调节方式称为累积调节。大肠杆菌的谷氨酰胺合成酶的调节是最早观察到的一种累积调节的例子。谷氨酰胺是合成 AMP、CTP、6-磷酸葡萄糖胺、组氨酸、氨甲酰磷酸等的前体，因此谷氨酰胺合成酶可以认为是上述几个代谢物合成过程中的第一个酶。实验证明这几种代谢物都能部分地抑制谷氨酰胺合成酶的活力，几种代谢物同时过多时，反馈抑制程度大大提高(图 16-7)。

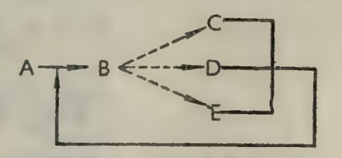


图 16-7　累积调节模式图

四、逐步反馈调节

图 16-8 表示在分支代谢途径中一种最终产物 E 过多时，对酶 c 抑制，于是中间产物 C 的浓度就会增加，这样就促使反应向 F、G 方向进行，最后造成另一个最终产物 G 的浓度增加。由于 G 过多，对酶 d 发生抑制，结果造成 C 的浓度进一步增加；C 过多时对酶 a 发生抑制，使 A → B 的反应慢下来。细菌通过这种逐步的调节达到平衡状态，这种调节方式称为逐步反馈调节(图 16-8)。这一现象最初是在研究枯草杆菌的芳香族氨基酸生物合成时所发现(图 16-9)。

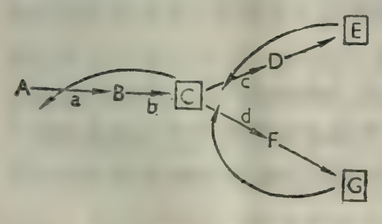


图 16-8　逐步反馈调节模式图

从以上几种分支代谢的调节可以看到，它们都具有一个特点，就是保证细胞内分支代谢的几种产物不至于因某一产物浓度过高而停止合成。

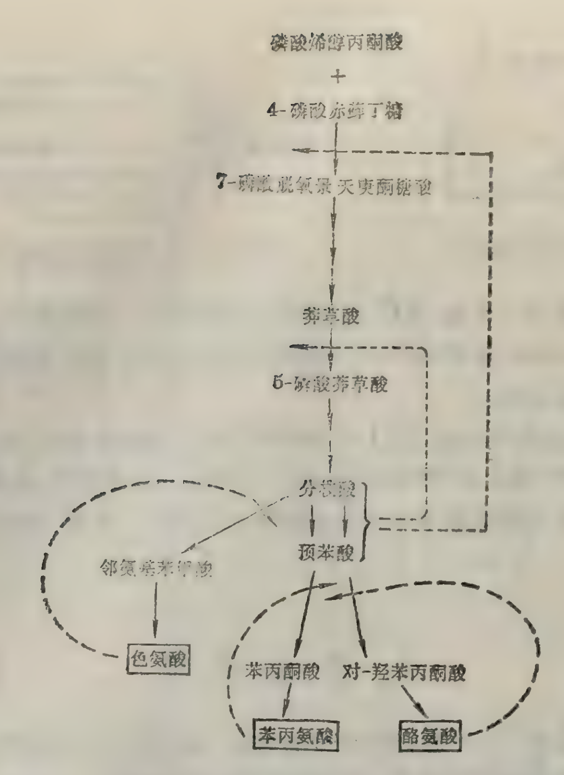


图 16-9　芳香族氨基酸合成代谢途径中的逐步反馈调节机制

第三节　代谢调节与微生物发酵工业

一、异亮氨酸的生产

许多微生物的异亮氨酸的合成代谢途径和调节作用如图 16-10 所示。当细胞内异亮氨酸过多时，异亮氨酸对催化反应 2 的 L-苏氨酸脱氨酶起了反馈抑制作用，从而减少异亮氨酸的合成，这是单线代谢途径反馈调节的一个例子。微生物通过抑制 L-苏氨酸脱氨酶来调节异亮氨酸的合成比抑制其他有关的酶更为有效。异亮氨酸的合成和苏氨酸、缬氨酸的合成密切有关，如果抑制反应 1，也能控制异亮氨酸的合成，但是苏氨酸的合成也将被抑制。抑制反应 3、4、5 或 6 也能控制异亮氨酸的合成，可是在这种情况下，不但缬氨酸的合成也将被抑制，而且还白白浪费了原料苏氨酸。

从这个例子中可以看出苏氨酸变为丁酮酸的一步是具有关键性意义的，代谢作用在此分支。控制分支处的酶对于细胞来说是最为经济的。有人将具有这样性质的一步反应称为“关键反应”，这个酶也可称为“关键酶”。从图 16-14 还可以看到在胞嘧啶核苷酸合成过程中，天冬氨酸转氨甲酰酶也是一个关键酶。

以上说明，用微生物发酵制造异亮氨酸时，如能克服异亮氨酸的反馈抑制作用，就可以达到累积产物的目的。有人在粘质赛氏杆菌中曾采用 D-苏氨酸代替 L-苏氨酸作原料来制造 L-异亮氨酸，这样可以避免微生物本身的调节作用，而累积较多的异亮氨酸。因为 D-苏

氨酸进行脱氨时是由细胞内的另外一种酶即D-苏氨酸脱氨酶，而不是L-苏氨酸脱氨酶所催化的。D-苏氨酸脱氨酶不受L-异亮氨酸的反馈抑制。

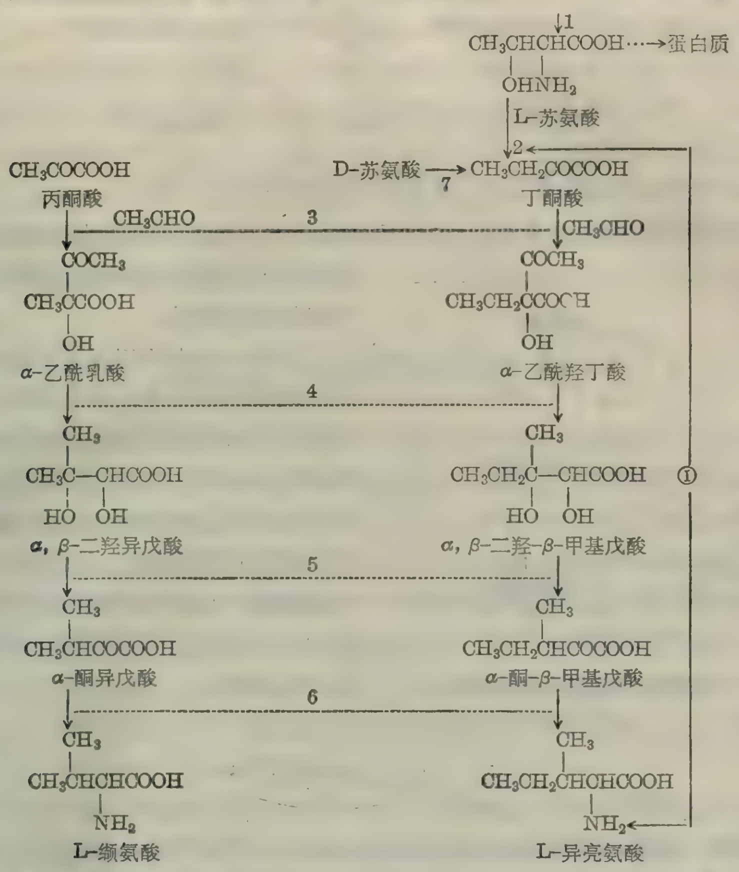


图16-10 微生物中L-缬氨酸和L-异亮氨酸生物合成途径中的代谢调节机制

2. L-苏氨酸脱氨酶 3. 合成酶 4. 还原异构酶 5. 脱水酶 6. 转氨酶 7. D-苏氨酸脱氨酶

二、赖氨酸的生产

在许多微生物中，赖氨酸的生物合成和苏氨酸、甲硫氨酸一样，都以天冬氨酸为原料。在正常细胞内游离的赖氨酸浓度不高，一方面由于赖氨酸对天冬氨酸激酶(AK)有反馈抑制作用，另一方面由于天冬氨酸除作为赖氨酸的原料外，还要用来合成甲硫氨酸和苏氨酸。因此用微生物发酵生产赖氨酸，必须选出这样一个菌种，这个菌种自己不能合成苏氨酸和甲硫氨酸，这样就可以节约原料，也即是有更多的天冬氨酸用来合成赖氨酸。工业上采用产谷氨酸棒杆菌的高丝氨酸缺陷型作为发酵生产赖氨酸的菌种。这个菌种的高丝氨酸脱氢酶(HSDH)失活，不能合成高丝氨酸，因此需要补给高丝氨酸(或补给甲硫氨酸和苏氨酸)才能生长。在含有较高的糖分和铵盐的培养基上，赖氨酸产量可达50克/升。

产谷氨酸棒杆菌中，三种最终产物对天冬氨酸代谢过程都起着一定的调节作用。苏氨酸对天冬氨酸激酶(AK)和高丝氨酸脱氢酶(HSDH)有反馈抑制作用；赖氨酸对天冬氨酸激酶也有反馈抑制作用；甲硫氨酸对高丝氨酸脱氢酶有阻遏作用(图16-11)。

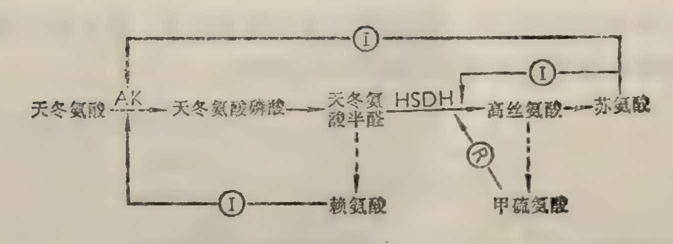


图 16-11　产谷氨酸棒杆菌的代谢调节机制

由于细菌本身具备这些调节作用,因此培养基内的苏氨酸应该控制在较低的水平上,以减弱对天冬氨酸激酶的反馈抑制效应，有利于赖氨酸的形成。

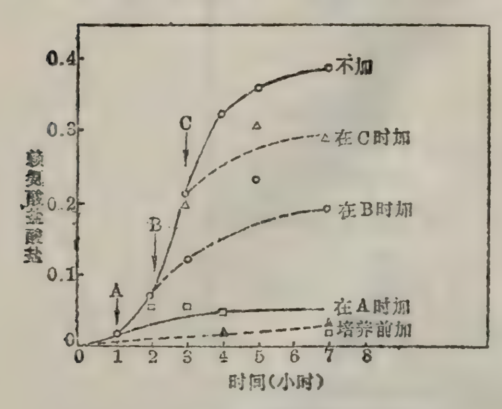


图 16-12　苏氨酸对赖氨酸形成的抑制

图 16-12 中所表示的实验结果说明苏氨酸对赖氨酸的合成有明显的抑制作用。将赖氨酸产生菌的完整细胞悬浮在只含葡萄糖、铵盐和必要的无机盐的培养基内振荡培养，这时由于缺乏维持生长的必要因素高丝氨酸或甲硫氨酸和苏氨酸,细菌并不繁殖,但能产生赖氨酸。在培养不同时间后加入DL-苏氨酸($2\times10^{-3}M$)，可以观察到赖氨酸的形成明显地被抑制。

三、肌苷酸的生产

肌苷酸(IMP)是嘌呤核苷酸生物合成过程中的一个中间产物，在正常细胞内 IMP 的浓度不高，因此用微生物发酵生产肌苷酸时必须选育一个突变发生在 IMP 转化为 AMP 或 GMP 的几步反应中的营养缺陷型,才可能有 IMP 累积。

产谷氨酸棒杆菌的一个腺嘌呤缺陷型(酶 12 失活，即腺嘌呤琥珀酸合成酶失活)，在含

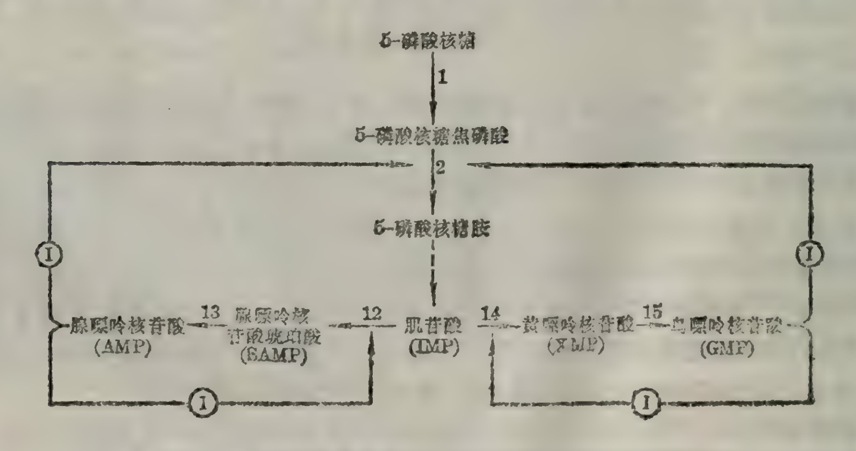


图 16-13　产谷氨酸棒杆菌中 IMP 合成途径的代谢调节机制

1. 5-磷酸核糖焦磷酸激酶　2. 5-磷酸核糖焦磷酸转胺酶　12. 腺嘌呤核苷酸琥珀酸合成酶　13. 腺嘌呤核苷酸琥珀酸分解酶　14. 肌苷酸脱氢酶　15. 黄嘌呤核苷酸转胺酶

有腺嘌呤的培养基上可以通过补救途径合成嘌呤核苷酸而生长，并能累积IMP。如果培养基中补充的腺嘌呤浓度过高时，细胞内AMP的浓度就要相应地增加，而AMP对磷酸核糖焦磷酸转胺酶(酶2)有反馈抑制作用，使IMP的形成受到抑制，因此在生产过程中必须将补给的腺嘌呤浓度限制在较低的水平上，以便减少对酶2的抑制作用(图16-13)。

在肌苷酸生产中，最初从谷氨酸产生菌中选育出需要腺嘌呤的菌株，能产肌苷酸1克/升，再从这个菌株出发又选出了需要腺嘌呤、甲硫氨酸、组氨酸和烟碱酸的菌株，肌苷酸的产量提高到5克/升。为什么变为甲硫氨酸、组氨酸、烟碱酸缺陷型后能提高肌苷酸产量，很可能也和代谢调节机制有关，但目前还没有弄清楚。也有人曾用类似的方法在产氨短杆菌中选得IMP产量达到12.8克/升的菌株。

第四节　反馈抑制的机制

为什么最终产物过多时会抑制酶的作用，而在最终产物的浓度减低时，抑制作用又会自然消失呢？近年来的研究认为，具有反馈抑制的酶分子上除了与底物结合的活力中心外，还有一个能和最终产物结合的部位，有人把这个部位称为调节中心，当它和最终产物结合之后就改变了酶分子的构象，从而影响了底物与活力中心的结合。最终产物和酶的调节中心的结合也是可逆的，因此当最终产物的浓度降低时，最终产物与酶的结合随即解离，从而恢复了酶蛋白的原有构象，使酶和底物可以结合而发生催化作用。这种酶能在最终产物的影响下改变构象，因此称为变构酶。凡是具有二个或二个以上的结合部位的蛋白质，当其中一个部位与效应物(小分子物质)结合后，蛋白质的构象发生变化，性能也随之而改变，这样的蛋白质称为变构蛋白。变构酶便是一种变构蛋白。

天冬氨酸转氨甲酰酶是研究得比较深入的一个变构酶，天冬氨酸转氨甲酰酶对嘧啶核苷酸合成的调节起着关键酶的作用，最终产物胞核苷三磷酸(CTP)对这个酶有反馈抑制作用(图16-14)。

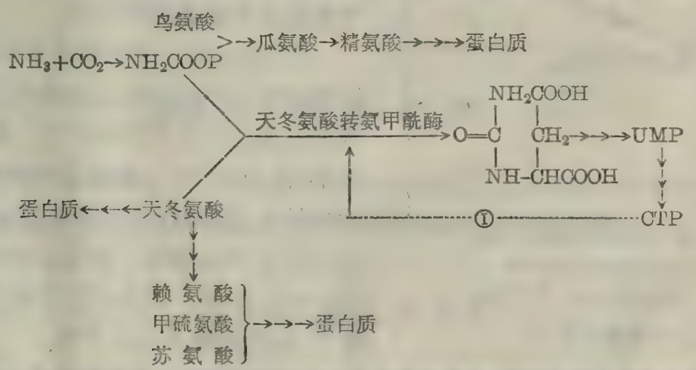


图16-14　胞嘧啶核苷三磷酸(CTP)的合成途径以及与CTP合成有关的代谢途径

下面几个事实足以说明天冬氨酸转氨甲酰酶(以下简称ATC酶)具有变构酶的特性：

1) 酶的反应速度和底物天冬氨酸浓度关系的曲线呈S形，而一般的酶反应都呈双曲线形。ATC酶的这一特性和血红蛋白与氧分子相结合的曲线很相象。血红蛋白和氧结合的曲线(图16-15)呈S形，肌红蛋白也能和氧结合，但曲线呈双曲线形(图16-16)。血红蛋白由四个亚基($\alpha_2\beta_2$)所组成，每一个亚基上有一个可以与氧结合的血红素分子。在没有氧

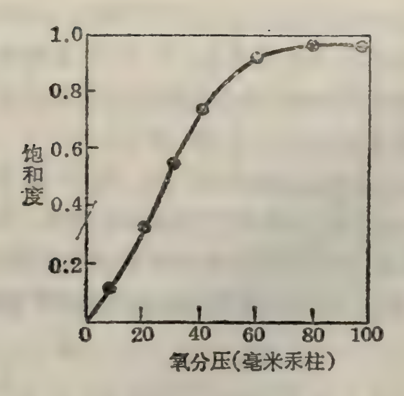


图 16-15　氧合血红蛋白的解离曲线

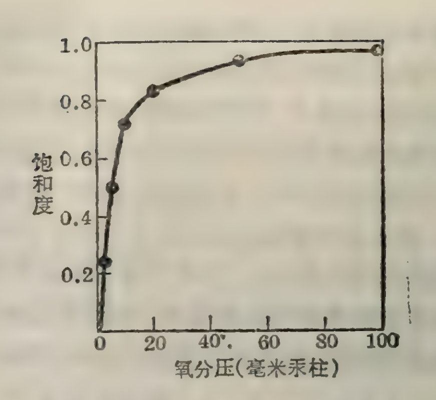


图 16-16　氧合肌红蛋白的解离曲线

存在时，这四个亚基之间相互作用的力很强，从而减弱了每一亚基与氧的亲和力。一旦氧与其中一个亚基相结合后，改变了整个血红蛋白的分子构型，使四个亚基之间的相互作用力减弱，这就有利于其余的亚基与氧相结合；当第二个亚基与氧结合后，再次减弱了亚基之间的相互作用力，进一步加强剩下的两个亚基与氧的结合，因此曲线呈 S 形。实验测定第四个氧分子与血红蛋白的结合力比第一个氧分子要大 280 倍。肌红蛋白只有一条肽链，它与氧的结合就不呈 S 形。比较这两个图形，可以看出在氧分压较低的范围内，例如 20 mm 汞柱附近，血红蛋白与氧的饱和程度比肌红蛋白与氧的饱和程度低得多，也就是在氧分压低时，随着氧分压的增加血红蛋白与氧的饱和度的增加较慢，而肌红蛋白则骤然增加。在较高的氧分压范围内例如 60 mm 汞柱以上，血红蛋白与氧的结合并不弱于肌红蛋白。血红蛋白也就是因为它具有这种变构性质，所以比肌红蛋白更适宜于携带氧气。在氧分压较高的动脉血中，它具有较强的携带氧的能力，而在氧分压较低的静脉血中，血红蛋白可以把大部分的氧解离出来。ATC 酶的动力学和血红蛋白相似。这一现象说明 ATC 酶的调节机制可能由于这个酶是由几条肽链所构成。

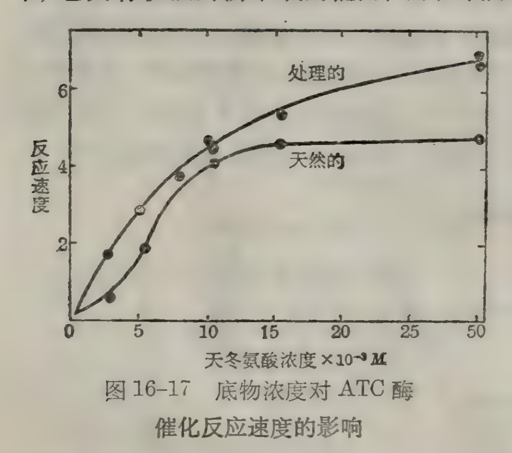


图 16-17　底物浓度对 ATC 酶催化反应速度的影响

2) 用加热、加尿素或汞盐等物理或化学因素处理 ATC 酶后，反应速度和底物天冬氨酸浓度之间的关系不再呈 S 形，而呈一般的双曲线形(图 16-17)。处理过的酶和天然的酶在其他特性上也有差别(表16-2)，由于尿素、加热都可以使多聚物解聚，解聚后的单体当然不再有相互作用的力，因此可以说明为什么经处理的 ATC 酶的曲线不再呈 S 形。

3) ATC 酶由两种不同的亚基所组成。最终产物 CTP 可以抑制 ATC 酶的活力，但抑

表 16-2　经处理的 ATC 酶和天然的 ATC 酶的特性比较

	处　理　的	天　然　的
最适 pH	8.5	7.0
K_m	$12\times10^{-3}M$	$6\times10^{-3}M$

制不会达到100%。增加天冬氨酸的浓度可以恢复酶的全部活力。从抑制不能达到100%这一点说明CTP和酶结合以后的复合物仍可以与酶结合，也就是说CTP和底物是分别与酶结合而不是竞争同一个活力中心。CTP对于用热或尿素等处理过的酶完全不起抑制作用，有力地说明CTP作用的部位和酶的活力中心很可能并不存在于同一条肽链上。只有当包含有CTP的作用位点的肽链和包含有活力中心的另一肽链结合在一起成为一个完整的酶分子时，CTP才能抑制酶的活力。如果这两条肽链分开以后，CTP虽然仍能和它的作用部位结合，但不会影响酶的活力中心，因此也就没有抑制作用。提纯的酶用对-羟-苯甲酸汞盐处理后确实可以分离得到两种蛋白：一种蛋白具有催化活力(催化亚基)；另一种蛋白能和CTP结合(调节亚基)。这两种蛋白的特性很不相同，如表16-3所示。

表16-3 ATC酶及其亚基的特性比较

	ATC酶	催化亚基	调节亚基
比活力 单位/mg	8.1×10^3	13×10^3	<40
被CTP的最大抑制(CTP浓度: $5\times10^{-4}M$)	75%	<3%	
分子量	3.1×10^5	1.0×10^5	3×10^4
与CTP的亲和力(即达到饱和时CTP所需的浓度)	$1.2\times10^{-5}M$	与CTP没有亲和力	$5\times10^{-5}M$

从以上这些事实看来，ATC酶的性质以及反馈抑制的调节机制已经比较清楚了。ATC酶是一种变构酶，由两种不同的亚基所组成，催化中心位在一种亚基上，调节中心位在另一种亚基上。最终产物CTP与调节中心结合后改变了亚基与亚基之间的相互作用，减弱了底物与酶的亲和力，产生抑制作用；当细胞内最终产物CTP浓度减低后，酶的活力又恢复正常。通过进一步的研究已经知道催化亚基和调节亚基都是由6条多肽组成。催化亚基的每条多肽分子量约为17,000，调节亚基的每条多肽分子量约为33,000，ATC酶的分子量约为300,000。

第五节 阻遏作用

在讨论阻遏作用的机制之前，必须先讨论酶的诱导，因为酶的诱导和酶的阻遏的机制十分相似，而且酶的阻遏机制是在研究酶的诱导机制的基础上搞清楚的。

一、二度生长现象

早在四十年代，有人观察到大肠杆菌在含有二种不同碳源的培养基上生长时出现二度生长的现象。它的特点是具有二个对数生长期，中间隔开生长停顿的一段时间。图16-18是大肠杆菌在葡萄糖和山梨糖醇作为碳源的合成培养基中的二度生长现象。从图可以看出两次生长的量和两种碳源的浓度成比例，即第一次生长的量与葡萄糖浓度成比例，第二次生长的量与山梨糖醇浓度成比例(图中a：葡萄糖50 μg/ml，山梨糖醇150 μg/ml；b：葡萄糖100 μg/ml；山梨糖醇100 μg/ml；c：葡萄糖150 μg/ml；山梨糖醇50 μg/ml)。

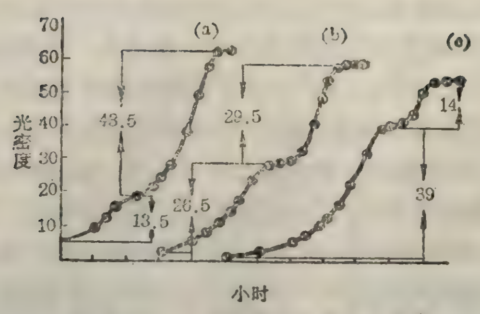


图 16-18　大肠杆菌的二度生长现象

二度生长现象是由于一般的大肠杆菌细胞内只含有利用葡萄糖的酶，而不含利用山梨糖醇的酶。因此对葡萄糖的利用不需要适应，就可立即利用。可是对山梨糖醇的利用则必须在山梨糖醇的诱导下，生成利用山梨糖醇的酶以后才能进行，而这种诱导作用受到葡萄糖的阻遏，所以必须在葡萄糖消耗完以后山梨糖醇才逐渐开始被利用。

二、β-半乳糖苷酶的诱导机制

大肠杆菌在以葡萄糖和乳糖作为碳源的培养基上生长时也有这种二度生长现象。培养大肠杆菌时，如果用乳糖代替葡萄糖，细菌的生长必先经过一段适应时期才开始生长繁殖。乳糖是一种双糖，细菌利用乳糖时必须通过β-半乳糖苷酶将乳糖分解为葡萄糖和半乳糖。在葡萄糖上生长的细菌细胞内β-半乳糖苷酶的量是极少的，加入了乳糖以后这种酶的量才大大增加，有人测定在未加乳糖以前每个细胞中只含5个酶分子，当加入乳糖2～3分钟之后，酶分子增加到5000个。由于这种酶是在适应了一段时间以后才形成的，过去称为适应酶，但因适应的涵义不够明确，现在称为诱导酶。β-半乳糖苷酶是研究得最早而且最为深入的一种诱导酶。乳糖或其他能起诱导作用的小分子物质称为诱导物。这种酶的诱导现象也是生物自我调节的一种方式，大肠杆菌的生长环境中如果没有乳糖，就没有必要合成分解乳糖的酶，不过它们具有合成这种酶的潜在能力，一旦需要的时候就可以合成。许多事实都说明半乳糖苷酶的合成平时是处在被阻遏的状态，当乳糖存在时，抵消了阻遏作用，于是酶就得以合成。

在前一章中讲到DNA是遗传信息的载体，信息通过蛋白质的结构体现出来。遗传学上一般将决定某一种蛋白质的某一段DNA称为某一基因。按照基因产物的性质，基因可以区别为结构基因和调节基因，以及一类没有基因产物的基因。结构基因的产物是酶、结构蛋白或抗原蛋白等(为tRNA、rRNA编码的基因也可列入这类)。调节基因的产物是阻遏蛋白或诱导蛋白，它们对结构基因的活动具有控制作用。启动基因和操纵基因则是没有基因产物的基因，启动基因(用p表示)是在转录作用中合成mRNA时RNA多聚酶附着的位置，操纵基因(用o表示)是阻遏蛋白结合的位置。

野生型大肠杆菌对乳糖的利用表现诱导现象，所以野生型为诱导型。有一类突变型虽经诱导也没有β-半乳糖苷酶的活性出现，在这类突变型中，决定β-半乳糖苷酶编码的结构基因发生了突变，所以即使经过诱导，所产生的相应的蛋白质也不具β-半乳糖苷酶的活性。另外还有一类突变型则不必诱导，便有大量的β-半乳糖苷酶产生，因此这种突

变型称为组成型。在组成型中发生突变的基因是调节基因。调节基因发生突变时，阻遏蛋白的结构发生变化，便失去了原有的阻遏作用，使细菌成为不经诱导便能产生 β- 半乳糖苷酶的组成型。

与乳糖代谢有关的酶，除了 β- 半乳糖苷酶以外，还有控制乳糖进入细胞的透性酶以及半乳糖苷转乙酰酶，后者能催化乙酰辅酶 A 上的乙酰基转移到半乳糖苷上的反应。但这种酶对细胞究竟有什么功能，至今还不甚了解。这三种酶的结构基因（以 z 代表 β- 半乳糖苷酶、以 y 代表透性酶、以 a 代表半乳糖苷转乙酰酶）是紧密连锁的（图 16-19）。调节基因和这三个结构基因则并不紧密连锁。除此以外，在结构基因的邻近还有启动基因和操纵基因。

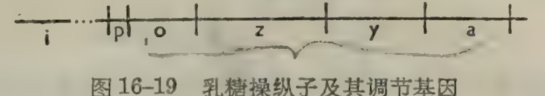


图 16-19　乳糖操纵子及其调节基因

i: 调节基因　p: 启动基因　o: 操纵基因　z, y, a: 结构基因

由于上述的三种酶同受一个操纵基因的控制，因此包括 o、z、y、a 等几个基因的一段 DNA 称为一个操纵子。乳糖的诱导作用可以用操纵子模型来说明（图 16-20）。当细胞不接触乳糖等诱导物时，阻遏物与操纵基因 o 结合，阻止 RNA 多聚酶向前移动，因此不能合成 mRNA，也就没有酶的合成（图 16-20A）。当有诱导物如乳糖存在时，阻遏物和诱导物结合，从而改变了阻遏物的构型，不再和操纵基因 o 结合，于是 RNA 多聚酶恢复作用，合成 mRNA，酶的合成也就恢复（图16-20B）。如果调节基因 i 发生突变，阻遏物的结构发生变化，不能和 o 位点结合，这个突变型不需诱导便有酶合成，因此是组成型（图 16-20C）。有关乳糖利用的三种酶转录成为一个 mRNA，因此阻遏物不仅影响 β- 半乳糖苷酶的合成，也同时影响到透性酶和半乳糖苷转乙酰酶的合成。图 16-21 表示 RNA 多聚酶在诱导酶合成过程中的动态，A 表示当阻遏物与 DNA 结合时阻止多聚酶的前进；B 表示诱导物存在时阻遏物不能与 DNA 结合，多聚酶的功能正常。

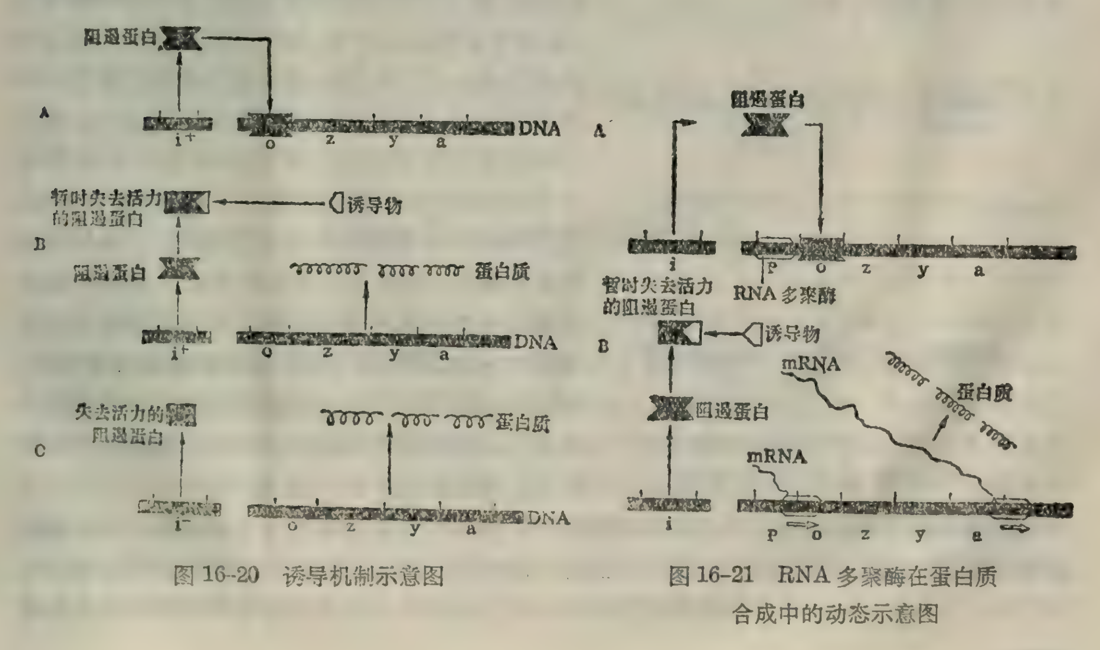


图 16-20　诱导机制示意图

图 16-21　RNA 多聚酶在蛋白质合成中的动态示意图

三、操纵子模型的生化证据

(1) 乳糖操纵子的阻遏物是蛋白质。遗传学分析预测乳糖操纵子的调节基因的产物是一种大分子物质，用生物化学方法，已经分离获得这种物质，它的化学本质是蛋白质。

异丙基-β-硫代半乳糖苷(简写为 IPTG)对乳糖操纵子是一个有效的诱导物，它能和阻遏蛋白结合。用放射性标记的 IPTG 可以分离出阻遏蛋白，它由分子量为 38,000 的 4 个相同的亚基所组成。每个亚基可以和一分子 IPTG 结合。IPTG 结构式如下：

CH_2OH ; O ; HO ; $-S-CH(CH_3)_2$; OH ; H ; H ; H ; H ; OH

(2) 阻遏蛋白能和 DNA 结合。在离体条件下证明这个阻遏蛋白确实能和大肠杆菌的乳糖操纵子 DNA 相结合，这种结合可被 IPTG 所解除。这是由于 IPTG 和阻遏蛋白的结合能力大于 DNA 和阻遏蛋白的结合能力。在 O 位点上发生了突变的 O^c 突变型不必加以诱导就有大量的半乳糖苷酶产生。在离体条件下也证明 O^c 突变型的 DNA 和阻遏蛋白确实不能结合。

四 阻 遏 机 制

酶的阻遏现象和酶的诱导现象非常相似，可以用一个统一的理论来解释(图 16-22)。

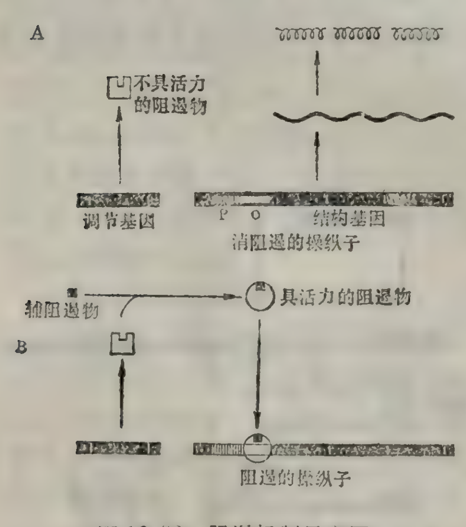


图 16-22 阻遏机制示意图

A 消阻遏的操纵子 B 阻遏的操纵子

在合成代谢中，催化氨基酸(或其他小分子最终产物)合成的酶随时都有需要，细胞中这些酶经常在合成，也就是说酶的合成经常处在消阻遏状态；而在分解代谢中的 β-半乳糖苷酶则经常处在阻遏状态。图 16-22A 表示调节基因产物不是处于活泼状态，因此不能和操纵基因(o)结合，转录和转译能正常地进行。图 16-22B 表示最终产物本身或最终产物的衍生物激活了阻遏物，这种具有活性的阻遏物能和操纵基因结合，于是转录作用就被抑制，酶的合成也自然停止。最终产物本身或其衍生物称为辅阻遏物，因为它们的作用也象辅酶一样，对大分子的阻遏物起着激活作用。由于在诱导作用中的诱导物和阻遏作用中的辅阻遏物都与阻遏物相结合而发生作用，因此又把它们统称为效应物。

大肠杆菌和鼠伤寒沙门氏菌的色氨酸操纵子的调节作用确实符合上述模型。色氨酸操纵子包括五个结构基因，这五个基因决定从分支酸开始直到色氨酸的五个酶的结构。整个操纵子被一个与它不相紧密连锁的调节基因(trpR)所控制。生物化学方面的研究结果支持遗

传学分析的结果：从野生型的大肠杆菌(trpR$^+$)菌株中抽提得到一种分子量约为58,000的蛋白质，在离体条件下证明这个蛋白质可以控制色氨酸操纵子的多基因mRNA的合成。突变型(trpR$^-$)则没有这种蛋白质，可见这个蛋白质便是调节基因的产物阻遏物。

在β-半乳糖苷酶的诱导作用中，或是在色氨酸合成的阻遏作用中，都有一个共同点，即是当阻遏蛋白和DNA发生作用时，操纵子不表现功能，无酶合成。反之，当阻遏蛋白和DNA不发生作用时，操纵子才表现功能，有酶合成。这种控制方式称为负控制。

五、自 身 调 节

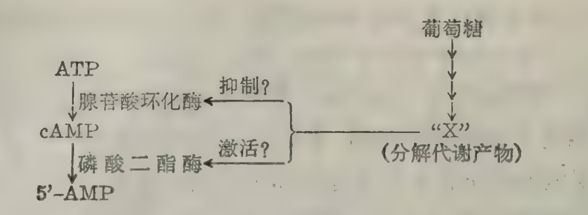
组氨酸的生物合成是通过十步反应完成的。遗传学分析指出催化这十步反应的酶是由九个结构基因所决定，它们集中存在于DNA的某一区域内，组成一个组氨酸操纵子。野生型的大肠杆菌在基本培养基上生长时，催化这十步反应的酶都能合成，但如果在培养基中加入组氨酸后，这些酶的合成都受到阻遏，直到加入的组氨酸用完之后，又重新合成。进一步的研究证明，对组氨酸操纵子直接起着阻遏作用的是组氨酰-tRNA而不是组氨酸本身。过去认为组氨酸合成代谢中的阻遏机制也和乳糖操纵子一样，组氨酰-tRNA作为辅阻遏物，它和调节基因的产物阻遏蛋白结合时，激活了阻遏蛋白，阻止组氨酸操纵子的转录。但是很久以来始终没有在遗传学上证明调节基因的存在，也没有在生物化学上证实阻遏蛋白的存在。直到1971年以后在鼠伤寒沙门氏菌和大肠杆菌中相继发现一类新的消阻遏突变型，终于说明了上述现象，并且提出了自身调节学说。在这类突变型中，组氨酸不但对第一个酶(G酶)失去了反馈抑制作用，并且组氨酸操纵子呈消阻遏状态，认为这是第一个酶的结构基因发生单一突变的结果，也就是说一次突变不可能既在G酶上发生，又在另一个阻遏物上发生。事实证明这里并没有一个专门的调节基因和它的产物阻遏蛋白，而是由合成代谢过程中第一个酶的结构基因兼备调节的功能，也就是第一个酶除起着酶的作用之外，还起着阻遏蛋白的作用，因此这样的调节作用称为自身调节。

自身调节不但存在于细菌中，近年来陆续发现在噬菌体、霉菌以及哺乳动物中也都有自身调节现象。

第六节　分解代谢物阻遏

大肠杆菌培养在只含乳糖不含葡萄糖的培养基上时，不能立刻生长，要经过一段生长停顿的时间才开始生长。在这一段停顿时间内逐渐诱导形成能使乳糖进入细胞的透性酶和分解乳糖的β-半乳糖苷酶。如果培养在既含葡萄糖又含乳糖的培养基上时，在葡萄糖没有用完之前，乳糖并不能诱导这两种酶的形成。这是由于葡萄糖对这两种酶的诱导合成起着阻遏作用。因此大肠杆菌的β-半乳糖苷酶的合成实际上受到两方面的影响，乳糖对它的诱导和葡萄糖对它的阻遏。葡萄糖是自然界中最为丰富的碳源，理应具备利用葡萄糖的组成酶系。在含葡萄糖和乳糖的培养基上，葡萄糖被优先利用，同时葡萄糖阻遏β-半乳糖苷酶的诱导合成。这种阻遏效应称为葡萄糖效应，或称分解代谢物阻遏。

β-半乳糖苷酶的合成所以被葡萄糖阻遏是由于细胞内缺少了 cAMP。在葡萄糖上生长的大肠杆菌，细胞内 cAMP 的量很少，β-半乳糖苷酶的合成也很少，如果加入了 cAMP，β-半乳糖苷酶的合成速度就大大增加。把经过 IPTG 诱导的大肠杆菌培养在含葡萄糖的培养基上，形成的乳糖操纵子 mRNA 的量极少，接近于未经诱导的水平；但如果加入 cAMP，则 mRNA 的量大为增加，几乎达到在不含有葡萄糖的培养基上经 IPTG 诱导的水平，这个实验一方面说明 cAMP 的作用，另一方面说明阻遏作用发生在转录水平上。至于为什么在葡萄糖上生长的大肠杆菌细胞内 cAMP 的浓度降低还不很清楚，可能是由于葡萄糖分解过程中的某种中间产物抑制了细胞内 cAMP 的形成，或者也可能这种中间产物激活了 cAMP 的分解，这两种情况都足以使 cAMP 的水平降低。因此葡萄糖效应也称为分解代谢物阻遏。但是这个中间产物究竟是什么还不清楚。



cAMP 对乳糖操纵子 mRNA 合成的激活作用还需要其他因子辅助。在大肠杆菌细胞内发现有一种 cAMP 接受蛋白（简写作 CRP 或 CAP），缺乏 CAP 的突变菌株即使用 IPTG 诱导也没有 mRNA 形成。从野生型菌株中抽提出来的这种蛋白质可以刺激 mRNA 的形成。CAP 已经被纯化，它是由分子量为 22,300 的两个亚基所组成。用乳糖操纵子 DNA 作离体的模板，发现 RNA 多聚酶和模板的结合以及 mRNA 合成的起始都必须有 cAMP 和 CAP 同时存在。

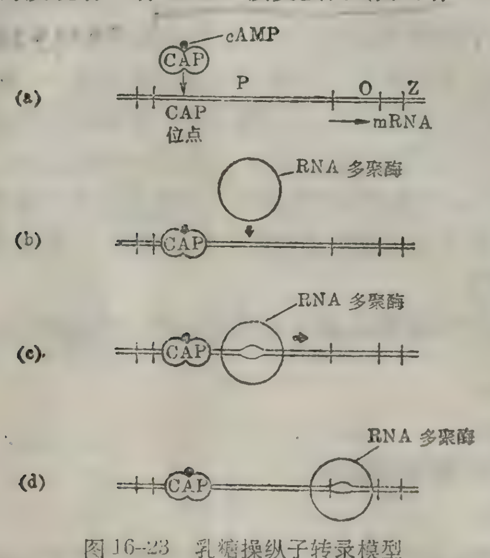


图 16-23　乳糖操纵子转录模型

已经证明乳糖操纵子的启动基因 (p) 包含两个位点：和 CAP 结合的位点(称 CAP 位点)以及和 RNA 多聚酶结合的位点。在转录开始时，cAMP 和 CAP 结合的复合物先与 CAP 位点结合，从而促进了 RNA 多聚酶和 RNA 多聚酶结合位点的结合。图 16-23 表示乳糖操纵子转录模型。图中(a)表示乳糖操纵子以及 cAMP 与 CAP 结合成的复合物；(b)表示复合物与乳糖操纵子上启动基因 p 的 CAP 位点结合，从而活化了 RNA 多聚酶位点；(c)表示 RNA 多聚酶进入 RNA 多聚酶位点向前漂移；(d)表示 RNA 多聚酶进入操纵基因 O 位点内的转录开始位点。

前面讲到乳糖操纵子中阻遏蛋白对 mRNA 的转录起阻遏作用，这种控制方式称为负控制，这里 CAP 对乳糖操纵子 mRNA 的转录所起的作用则恰恰相反，当 CAP 与 DNA 结合时促进转录，因此这种控制方式称为正控制。所以说乳糖操纵子的转录是通过正负两种方式控制的。

第七节　微生物代谢失调在生产实践上的应用

代谢物(例如苯丙氨酸)的某些结构类似物(例如对-氟苯丙氨酸)对于微生物往往具有毒害作用，而代谢物则往往能消除这种毒害作用。例如在培养基中加入对-氟苯丙氨酸，就能抑制微生物的生长，但如果同时加入足够量的苯丙氨酸，则微生物仍能生长。由于这种代谢作用上的拮抗现象，所以代谢物的结构类似物又称为抗代谢物。

用诱变剂处理微生物，使它们发生突变，可以筛选出对于某种抗代谢物具有抗性的突变型，这些突变型菌株对于抗代谢物变为不敏感，即不再受它的毒害。这些抗性菌株的生理生化特性并不完全相同，其中某些抗性菌株细胞内可以累积与抗代谢物对应的代谢物。例如抗对-氟苯丙氨酸的大肠杆菌可以累积酪氨酸。生产实践上可以利用这种抗性菌株来生产某种代谢物。通过调节机制的研究，知道这种抗性菌株所以能累积更多的代谢物，是调节失效的结果。表 16-4 中列出了一些对于抗代谢物具有抗性的微生物及其分泌的代谢物。

表 16-4　抗性突变型及其累积的代谢物

抗代谢物	分泌的代谢物	微生物
对-氟苯丙氨酸	酪氨酸	大肠杆菌
乙硫氨酸	甲硫氨酸	大肠杆菌
6-甲基色氨酸	色氨酸	鼠伤寒沙门氏菌
刀豆氨酸	精氨酸	大肠杆菌
2, 6-二氨基嘌呤	腺嘌呤	鼠伤寒沙门氏菌

为什么细菌在含抗代谢物的培养基上生长会受到抑制呢?以氨基酸的类似物为例(如对-氟苯丙氨酸、乙硫氨酸等)，推测它们的制菌作用可能由于下列几种原因：

(1) 抗代谢物参入蛋白质，从而造成蛋白质的结构改变和活性丧失。在蛋白质的合成过程中，苯丙氨酰-tRNA 合成酶有可能误将对-氟苯丙氨酸代替苯丙氨酸而形成对-氟苯丙氨酰-tRNA。已经知道氨基酰-tRNA 与 mRNA 的识别只和 tRNA 上的反密码子有关，而和 tRNA 上所携带的氨基酸无关，因此对-氟苯丙氨酸就可以代替苯丙氨酸参入蛋白质。如果这个蛋白质是生命活动中的一个重要的酶，而且对-氟苯丙氨酸所取代的位置与酶的活性中心密切有关，那末就有可能因为结构改变而失去活性，从而影响细菌的生活力。

(2) 抗代谢物与反馈抑制调节作用中的变构酶的调节中心发生不可逆的结合，改变了酶的构型，影响底物和酶的结合，于是酶的活力降低，从而影响细菌的生活力。

(3) 抗代谢物和细胞内起调节作用的阻遏蛋白发生不可逆的结合，于是后者就被激活，这种具有活性的阻遏蛋白和 DNA 结合并抑制转录，酶的合成也就受到阻碍，于是细胞内最终产物的浓度减低，生长受到抑制。

那么为什么抗性菌株不受抗代谢物的毒害而能够生长呢?这可能由于下列几种原因：

(1) 由于细胞膜发生了变化，毒物不能进入(例如细菌对四环素类的抗药性)。

(2) 由于产生了一种能够分解该有毒物质的酶(例如细菌对青霉素的抗药性由于产生青霉素酶)。

(3) 由于原来具有反馈抑制的酶结构发生了变化(即变构酶发生了变化)，不再受抗代谢物或最终产物的抑制。

(4) 由于阻遏蛋白的结构发生了变化，抗代谢物或最终产物都不能和它结合。

在上述的四种情况下，只有(3)、(4)两种抗性菌株有可能累积代谢物。通过用抗代谢物来筛选抗性突变型的方法，曾经获得不少能够分泌过量代谢物的突变型(表 16-4)。这些突变菌株能分泌过量代谢物的原因究竟是由于反馈系统还是阻遏系统发生变化，目前还不能肯定。这里仅举二个比较能说明问题的例子，有人将枯草杆菌诱变，从中选出抗氟-色氨酸的菌株，色氨酸产量可达 4 克/升。它的邻氨基苯甲酸合成酶的活力比原菌株增加了 280 倍，因此认为是由于阻遏系统发生变化而出现的消阻遏现象。另外还曾找到抗 5-甲基-色氨酸的大肠杆菌品系，能分泌比野生型更多的色氨酸，它的邻氨基苯甲酸合成酶被色氨酸抑制的程度比野生型低，说明这个起调节作用的酶发生了变化，失去了反馈抑制的性质，所以能累积色氨酸。

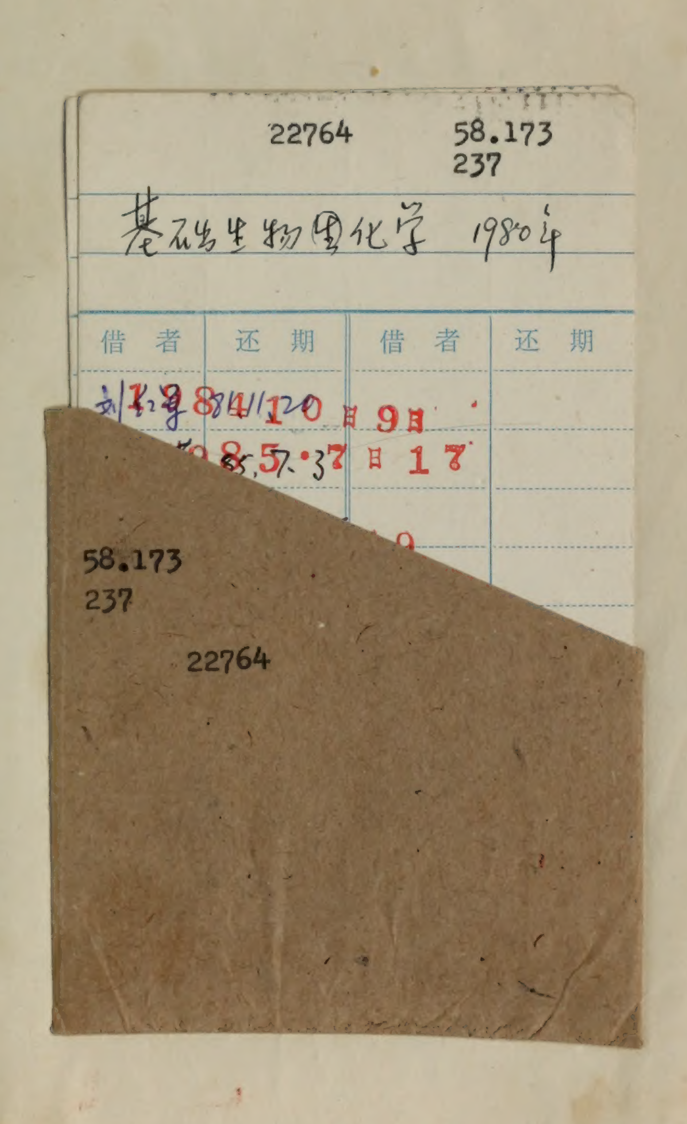
附录　常用生化名词缩写

A, Ado	adenosine 腺(嘌呤核)苷
dA, dAdo	deoxyadenosine 脱氧腺(嘌呤核)苷
ACTH	adrenocorticotropic hormone 促肾上腺皮质激素
Ade	adenine 腺嘌呤
ADP	adenosine diphosphate 腺苷二磷酸
Ala	alanine 丙氨酸
AMP	adenosine monophosphate; adenylic acid 腺苷一磷酸，腺苷酸
cAMP	cyclic adenosine monophosphate; 3′, 5′-cyclic adenylic acid, adenosine-3′, 5′-monophosphate 环腺苷酸
dAMP	deoxyadenosine monophosphate 脱氧腺苷酸
Arg	arginine 精氨酸
Asn	asparagine 天冬酰胺
Asp	aspartic acid 天冬氨酸
ATP	adenosine triphosphate 腺苷三磷酸，三磷酸腺苷
ATPase	adenosine triphosphatase 腺苷三磷酸酶
BAL	dimercaprol, dimercaptopropanol 二巯基丙醇
C, Cyd	cytidine 胞(嘧啶核)苷
dC, dCyd	deoxycytidine, cytosine deoxyriboside 脱氧胞苷
Cbz	carbobenzoxy 苄氧羰基
CCC	chlorocholine chloride 氯化氯胆碱，矮壮素
CDP	cytidine diphosphate 胞苷二磷酸
CF	citrovorum factor 嗜橙菌因子，亚叶酸，N^5-甲酰四氢叶酸
Cit	citrulline 瓜氨酸
CMC	carboxymethyl cellulose 羧甲基纤维素
CMP	cytidine monophosphate, cytidylic acid 胞苷一磷酸，胞苷酸
dCMP	deoxycytidylic acid 脱氧胞苷酸
CoA	Coenzyme A 辅酶 A
CRH, CRF	corticotropin releasing hormone 促(肾上腺)皮质激素释放激素

CTP	cytidine triphosphate 胞苷三磷酸
Cys	cysteine 半胱氨酸
$(Cys)_2$	cystine 胱氨酸
Cyt	cytosine 胞嘧啶
d-	dextro- 右旋的
DCC, DCCI	dicyclohexylcarbodiimide 二环己基碳二亚胺
DCU	dicyclohexylurea 二环己(基)脲
DEAE	diethylaminoethyl 二乙氨乙基
DFP	diisopropyl fluorophosphate 二异丙基氟磷酸
DNA	deoxyribonucleic acid 脱氧核糖核酸
DNase	deoxyribonuclease 脱氧核糖核酸酶
DNP	dinitrophenol 二硝基苯酚
DOPA	3, 4-dihydroxyphenylalanine 3, 4-二羟苯丙氨酸，多巴
DTT	dithiothreitol 二硫苏糖醇
DU, hU	5, 6-dihydrouridine 二氢尿苷
EB	ethidium bromide 溴(化)乙锭
EDTA	editic acid; ethylene diaminetetraacetic acid 乙二胺四乙酸
EMP	Embden-Meyerhof-Parnas pathway EMP 途径，糖酵解途径
FAD	flavin adenine dinucleotide 黄素腺嘌呤二核苷酸
FMN	flavin mononucleotide 黄素单核苷酸
α FP, AFP	α-f(o)etoprotein 甲(种)胎(儿)蛋白
FRH	follicle stimulating hormone releasing hormone 促卵泡激素释放激素
FSH	follicle stimulating hormone 促卵泡激素
5 FU	5-fluorouracil 5-氟尿嘧啶
G; Guo	guanosine 鸟(嘌呤核)苷
dG; dGuo	deoxyguanosine 脱氧鸟苷
GDP	guanosine diphosphate 鸟苷二磷酸
GH	growth hormone 生长激素
Gly	glycine 甘氨酸
GMP	guanylic acid 鸟苷酸
Gln	glutamine 谷氨酰胺
Glu	glutamic acid 谷氨酸
dGMP	deoxyguanylic acid 脱氧鸟苷酸
GOT	glutamic-oxalacetic transaminase 谷(氨酸)草(酰乙酸)转氨酶
G6PD	glucose-6-phosphate dehydrogenase 葡萄糖-6-磷酸脱氢酶
GPT	glutamic-pyruvic transaminase 谷(氨酸)丙(酮酸)转氨酶
GSH	glutathione(reduced form) 还原型谷胱甘肽
GSSG	glutathione(oxidized form) 氧化型谷胱甘肽
Gua	guanine 鸟嘌呤
Hb	hemoglobin 血红蛋白
His	histidine 组氨酸
Hyl	hydroxylysine 羟(基)赖氨酸
Hyp	hydroxyproline 羟(基)脯氨酸

I　inhibitor　抑制剂
I; Ino　inosine　次黄(嘌呤核)苷, 肌苷
IAA　indole-3-acetic acid　吲哚(-3-)乙酸, 植物生长素
Ig　immunoglobulin　免疫球蛋白
Ile　isoleucine　异亮氨酸
IMP　inosinic acid　次黄苷酸, 肌苷酸
ITP　inosine triphosphate　次黄苷三磷酸
dITP　deoxyinosine triphosphate　脱氧肌苷三磷酸, 脱氧次黄苷三磷酸
JH　juvenile hormone　保幼激素
l-　l(a)evo-左旋的
LDH　lactic dehydrogenase, lactate dehydrogenase　乳酸脱氢酶
Leu　leucine　亮氨酸
LH　luteinizing hormone　促黄体(生成)激素
LRH, LRF　luteinizing hormone releasing hormone　促黄体(生成)激素释放激素
LTH　luteotropic hormone　催乳激素
Lys　lysine　赖氨酸
Met　methionine　甲硫氨酸, 蛋氨酸
MH　molting hormone　蜕皮激素
6MP　6-mercaptopurine　6-巯基嘌呤
MSH　melanocyte stimulating hormone; melanophore stimulating hormone　促黑(素细胞)激素
NAD, CoI, DPN　nicotinamide adenine dinucleotide; Coenzyme I; diphosphopyridine nucleotide　烟酰胺腺嘌呤二核苷酸, 辅酶 I, 二磷酸吡啶核苷酸
NADP, CoII, TPN　nicotinamide adenine dinulcotide phosphate, Coenzyme II, triphosphopyridine nucleotide　烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸, 辅酶 II, 三磷酸吡啶核苷酸
ng　nanogram　纳克, 毫微克, 10^{-9} 克
nm; mμ　nanometer　纳米, 毫微米, 10^{-9} 米
NPN　non-protein nitrogen　非蛋白氮
OD　optical density　光密度
Orn　ornithine　鸟氨酸
PABA　P-aminobenzoic acid　对氨基苯甲酸
PCA　perchloric acid　高氯酸
pg　picogram　皮克, 微微克, 10^{-12} 克
PG　prostaglandin　前列腺素
Phe　phenylalanine　苯丙氨酸
Pi　inorganic phosphate　无机磷酸
Poly(A)　polyadenylic acid　多聚腺苷酸
Poly(U)　polyuridylic acid　多聚尿苷酸
PP　pyrophosphate　焦磷酸
PRL　prolactin　催乳激素
Pro　proline　脯氨酸
PRPP　phosphoribosylpyrophosphate　磷酸核糖焦磷酸
PTC　phenylthiocarbamyl-　苯氨基硫甲酰基

PTH 3-phenyl-2-thiohydantoin 乙内酰苯硫脲
PTH parathyroid hormone 甲状旁腺(激)素
Pu purine 嘌呤
Py pyrimidine 嘧啶
RNA ribonucleic acid 核糖核酸
RNase ribonuclease 核糖核酸酶
cRNA chromosomal RNA 染色体 RNA
mRNA messenger RNA 信使 RNA
rRNA ribosomal RNA 核蛋白体 RNA, 核糖体 RNA
sRNA soluble RNA 可溶性 RNA
tRNA transfer RNA 转移 RNA
RQ respiratory quotient 呼吸商
S 1. Svedberg unit, 2. substrate, 3. sulfur. 1. 沉降系数单位, 2. 底物, 3. 硫
SDS sodium dodecylsufate 十二烷基硫酸钠
Ser serine 丝氨酸
Sf flotation coefficient 漂浮系数
SPD ase spleen phosphodiesterase 脾磷酸二酯酶
SS, GIH, SRIH, GRIH somatostatin 生长激素释放抑制因子
T, dT deoxythymidine 脱氧胸苷
T_4 thyroxine; 3, 5, 3, 5-tetraiodothyronine 甲状腺(激)素, 四碘甲腺原氨酸
T_3 3, 5, 3-triiodothyronine 三碘甲腺原氨酸
TBG thyroid binding globulin 甲状腺结合球蛋白
TCA trichloroacetic acid 三氯乙酸
TDP, dTDP thymidine diphosphate 胸苷二磷酸
TH, TSH thyrotropic hormone; thyroid stimulating hormone 促甲状腺激素
Thr threonine 苏氨酸
TMP trimethoprimum 甲氧苄氨嘧啶
TMP, dTMP deoxythymidylic acid 脱氧胸苷酸
TMV tobacco mosaic virus 烟草花叶病毒, 烟草斑纹病毒
TRH, TRF thyrotropin releasing hormone, TSH releasing hormone 促甲状腺(激)素释放激素
Trp tryptophan(e) 色氨酸
Tyr tyrosine 酪氨酸
U, Urd uridine 尿(嘧啶核)苷
UDP uridine diphosphate 尿苷二磷酸
UDPG uridine diphosphate glucose 尿苷二磷酸葡糖
UMP uridine monophosphate, uridylic acid 尿苷一磷酸, 尿苷酸
Ura uracil 尿嘧啶
UTP uridine triphosphate 尿苷三磷酸
Val valine 缬氨酸
VPDase venom phosphodiesterase 蛇毒磷酸二酯酶
X, Xao Xanthosine 黄(嘌呤核)苷
Xan xanthine 黄嘌呤
XMP xanthylic acid, xanthosine monophosphate 黄苷酸, 黄苷一磷酸
ψ pseudouridine 假尿(嘧啶核)苷


22764
58.173
237
基础生物图化学 1980年
借 者
还 期
借 者
还 期
58.173
237
22764



封面设计：瞿顺发

书号：1311[illegible]96
定价：(科四)2.65元